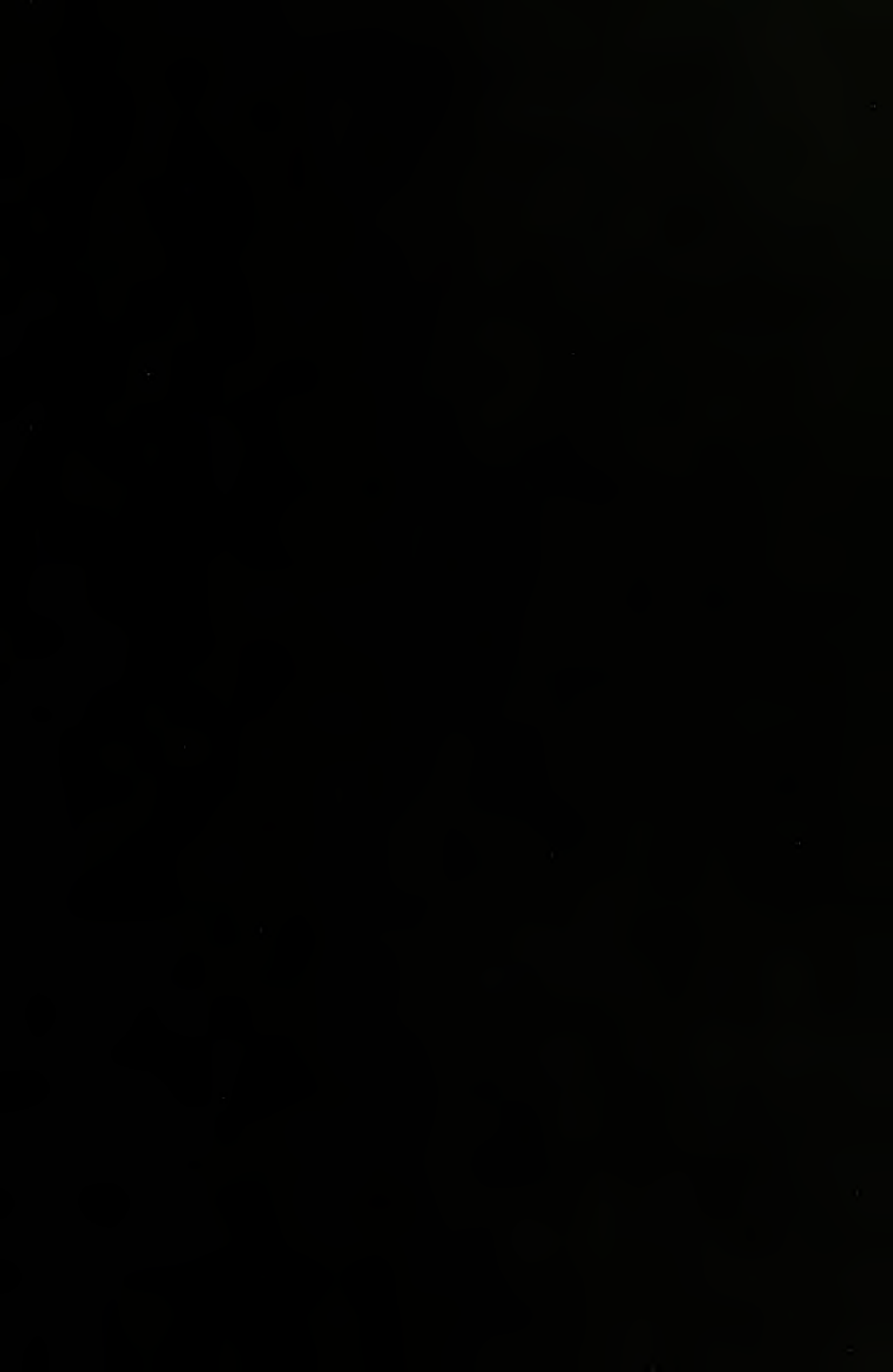






Zeitschrift für technische Biologie

Neue Folge der Zeitschrift für Gärungsphysiologie

unter Mitwirkung von hervorragenden Fachgenossen

herausgegeben von

Professor Dr. Paul Lindner-Berlin

Band VII

LEIPZIG
Verlag von Gebrüder Borntraeger
1919

Druck von E. Buchbinder (H. Duske) in Neuruppin

Inhalt



Geleitwort

zum ersten Heft

der Zeitschrift für technische Biologie

Durch die neue Namensgebung wird schon angedeutet, daß auf die Nutzbarmachung der Wissenschaft für das technische Gewerbe besonderes Gewicht gelegt wird. In einer Hinsicht ist der Rahmen der Zeitschrift erheblich erweitert, indem neue Richtungen der technischen Biologie, die mit Gärung nichts mehr zu tun haben, aufgenommen werden, andererseits ist aber durch Betonung der „technischen" Biologie wieder angedeutet eine besondere Rücksichtnahme auf das technisch Wichtige, also eine gewisse Einschränkung.

Ist es auf der einen Seite der Wissenschaftler, an den sich die Zeitschrift wendet, um ihm Anregungen zu praktisch nutzbaren Untersuchungen zu geben beziehungsweise sich solche von ihm geben zu lassen, so sprechen wir auf der anderen Seite zu dem Praktiker, um ihm wissenschaftliche Errungenschaften zu vermitteln und neue Wege anzudeuten, auf denen die Technik sich versuchen sollte. Wem sie nun mehr dienen wird, ist nicht leicht zu sagen; in jedem Falle aber wird der Herausgeber bemüht sein, beide Kategorien von Lesern zu befriedigen, sie aber gleichzeitig beide anzuspornen zu gemeinsamer Förderung der technischen Gewerbe. Vor dem Kriege haben unsere Hochschullaboratorien nur vereinzelt sich um die Erfordernisse der Praxis gekümmert; der Krieg forderte dann aber gebieterisch die Beschäftigung mit den Tagesnöten und dem Nächstliegenden. So wird es noch geraume Zeit bleiben auch nach dem Friedensschluß; man wird vor allem nutzbare wissenschaftliche Arbeit leisten wollen.

Die technische Biologie hat während des Krieges neue bemerkenswerte Fortschritte gemacht — es sei nur erinnert an die Einspannung der Mikroben zur Milchsäure-, Zitronensäure-, Essigsäure-. Aceton-, Alkohol-, Glyzerin-, Fett- und Eiweißgewinnung, zur Brot-, Bier-, Wein-, Met-, Kefir-, Kumys-, Mazun-, Yoghurt-, Kwaß-, Teekwaß-, Butter-, Käsebereitung, zur Abwässerreinigung, Dungverarbeitung, zur Harnvergärung, zur Rötte der Faserpflanzen, zum Einsäuern von Futter- und Gemüsepflanzen, ihre Bekämpfung bei der Herstellung der Konserven, Marmeladen, Trockengemüse usw.

Die Flora der einzelnen Betriebe hat mit der Aufnahme neuer Fabrikationszweige weitgehende Veränderungen erfahren. Die Gebinde, Fässer und Flaschen, Korken bergen heut z. T. ganz andere Arten, die beim Umstellen in die alte Betriebsform sich geltend machen werden.

Die Abwehr des Ungeziefers ist zu einer vollendeten Technik gelangt und hat Einrichtungen größeren Stils und unglaubliche Ausgaben erfordert.

Die Friedensarbeit wird manche Lücken der Kriegsarbeit, die in der Hast und Überstürzung nicht ausgefüllt werden konnten, ausbessern, dann aber vor allem sich auf höchste Sparsamkeit im Betrieb einstellen müssen.

Es ist nun unter den obwaltenden Umständen angezeigt, die Leiter der biologischen Laboratorien unserer Hochschulen dringend zu bitten, den Doktoranden Aufgaben zu stellen, die den biologischen Betrieben unmittelbar oder mittelbar von Nutzen sein können. In dieser Hinsicht sei auf die Arbeit von Hans Naumann in diesem Heft hingewiesen, die zur Vertiefung unserer Kenntnisse wertvolle Beiträge liefert. Die Liste von Hefen in der Arbeit von mir und Toni Unger zeigt, daß lebendes Material genügend zur Verfügung steht zur Durchführung ähnlicher Arbeiten.

Auf die Bedeutung einer Kulturensammlung zum Zweck der Bestimmung in der Praxis aufgefundener Mikroben habe ich wiederholt hingewiesen; nur sie ermöglicht dem einzelnen Forscher, sich über die Neuheit der aufgefundenen Art schnellstens zu orientieren; ihr Vor-

handensein verpflichtet aber ihn auch, seine Kulturen nach Abschluß der Arbeit ihr zu überlassen. Bisher konnte man öfters erleben, daß Mikroben, über die Mitteilungen veröffentlicht wurden, bis zur Zeit des Erscheinens derselben nicht mehr aufbewahrt worden waren. Sollte eine Zentralsammelstelle für Kulturen nicht zustande kommen, so wird es empfehlenswert sein, daß jedes biologisches Laboratorium wenigstens für eine bestimmte Gruppe die Obhut übernimmt oder sich vorwiegend mit dieser einen Gruppe beschäftigt, auch wenn sie nicht die Sammlung selbst weiter führt. Es würde dies vorläufig den Vorteil bieten, daß jeder angehende Forscher, der sich für eine bestimmte Mikrobengruppe interessiert, in der betreffenden Obhutstelle auch die besten Auskünfte erhalten würde.

Die biologischen Gewerbe aber sollten zur Förderung der Kenntnis der technisch wichtigen Mikroben sich verpflichtet halten, sie angehende Forschungen bezw. die Obhutstellen mit Geldmitteln zu unterstützen oder solche Unterstützungen bei den Behörden zu beantragen.

Die vorliegende Zeitschrift wird es als ihre Aufgabe ansehen, die Männer der biologischen Wissenschaft und Praxis mit den jeweiligen Ergebnissen der Forschung auf dem Gebiet der technisch wichtigen Mikroben vertraut zu machen, erbittet und erwartet aber auch ihre hilfsbereite Mitarbeit.

Berlin, April 1919 **Paul Lindner**



Die Lebenstätigkeit von Sproßpilzen in mineralischen Nährlösungen

von

Hans Naumann

Einleitung

Die Aussaat einer einzigen Zelle in ein geeignetes Nährsubstrat, welches Stickstoff in organischer Bindungsform enthält, ist bekanntlich die Grundlage für die Reinzucht von Bier-, Wein-, Preß- und anderen Hefen. Die Entwicklung von einer einzeln ausgesäten Zelle ab erfolgt, wenn diese lebensfähig ist, durchaus normal. Es tritt reichliche Vermehrung, Gärung und Stickstoffassimilation ein.

Für die Industrie der Gärungsgewerbe gewinnt diese Tatsache zuerst Bedeutung durch Chr. Emil Hansen, Kopenhagen. Er führt durch seine Kulturmethoden von einer Zelle ab die Trennung der Rassen und ihre Reinkultur durch.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei Aussaat einzelner Hefenzellen in Nährsubstrate, welche den Stickstoff nur in anorganischer Form bieten, d. h. in mineralischen Nährsalzlösungen. Schon seit Pasteur ist auf diesem Gebiet gearbeitet worden (es handelt sich dabei meist um Versuche mit großen Aussaaten ohne genaue Angabe der Anzahl der ausgesäten Zellenzahl), ohne daß bis heute unsere Kenntnis darin abgeschlossen wurde.

In dieser Arbeit habe ich mir die Aufgabe gestellt, an der Erweiterung dieser Kenntnis zu arbeiten.

In mineralischen Nährlösungen, die Zucker als Kohlenstoffquelle enthalten, tritt bei Aussaat einer einzigen Zelle weder Vermehrung, Gärung noch Stickstoffumsatz ein.

Wildiers versucht diese Tatsache zu erklären durch den Mangel an „Bios“. Pringsheim zeigt, daß Hefen nach Angewöhnung an mineralische Nährlösungen, selbst wenn dieselben einzeln ausgesät

werden, zur Entwicklung gelangen. Aus der Literatur habe ich ferner bei Kossowicz (14) festgestellt, daß bei Aussaat einzelner Hefenzellen in mineralische Nährlösungen bei gleichzeitigem Wachstum von Schimmelpilzen oder Mycoderma Hefenwachstum eintritt. Neue Arbeiten von Lindet (27), Le dechet de la fermentation alcoolique, bezeichnen leicht assimilierbare Kohlenwasserstoffverbindungen als geeignet, den Hefezellen die Assimilation des Ammoniakstickstoffs zu erleichtern. — Dies ist in großen Zügen skizziert der heutige Stand.

Ehe ich nun zu meinen eigenen experimentellen Arbeiten übergehe, werde ich über meine umfassenden Literaturstudien berichten, die mir wertvolle Anregungen zur Bearbeitung dieses Gebietes lieferten.

Literatur

Als erster hat sich Pasteur (1) schon im Jahre 1858 mit der Frage des Wachstums der Hefezellen in mineralischen Nährlösungen beschäftigt. Er sprach das Gebiet als ein verworrenes an. Die von ihm zunächst aufgestellte Behauptung, daß anorganischer Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen zur Ernährung und Entwicklung der Hefe geeignet sei, wurde bestätigt durch die Arbeiten von Duclaux (2). Hierbei möchte ich betonen, daß es sich bei den Pasteurschen und Duclauxschen Versuchen nur um große Aussaaten handelt. Die Notwendigkeit dieser Bedingung war ihnen jedoch noch unbekannt. Daher gelangte auch Pasteurs Behauptung, daß anorganischer Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen zur Ernährung und Bildung der Hefe vollkommen ausreichend sei, zur allgemeinen Annahme.

Pasteur hatte ferner festgestellt, daß anorganischer Stickstoff weit weniger günstig sei für die Ernährung als organische Stickstoffgabe, ein Ergebnis, welches Mayer (3) und später Nägeli (4) 1879 bestätigten.

Im Jahre 1901 fand Wildiers (7), daß Hefen bei schwacher Aussaat in gezuckerten Nährlösungen, welche den Stickstoff in Form von Ammoniumsalzen enthalten, nur dann Vermehrung und Gärung zeigten, wenn eine gewisse chemische Substanz, von ihm „Bios“ genannt, in irgend einer Form zugesetzt wurde.

Wildiers charakterisierte das Bios als einen für die Entwicklung der Hefe unentbehrlichen Körper. Bios ist löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol und Äther. In der Asche der Hefe findet sich

Bios nicht vor. Es ist nicht identisch mit Harnstoff, Asparagin, Leucin, Tyrosin, den Nukleinbasen Adenin und Guanin, Thymusnukleinsäure, Kreatin und denpeptischen und tryptischen Verdauungsprodukten chemisch reiner Albumosen.

Bios ist zu finden in Liebigs Fleischextrakt, in Handelspeptonen und in der Bierwürze. Bios ist ferner vorhanden im Hefewasser, und darauf ist die lebengebende Wirkung größerer Aussaaten nach Ansicht des Verfassers zurückzuführen.

Fernbach (8) tritt der Biostheorie gegenüber scharf kritisierend auf und sagt, Wildiers hätte sich, ehe er den Grund des Nichtwachsens der Hefen genau erforscht und veröffentlicht habe, davon überzeugen müssen, ob die von ihm verwendeten mineralischen Nährsalze und auch das destillierte Wasser frei von antiseptisch wirkenden Stoffen gewesen sei. Er wirft ferner die Frage auf: „War der benutzte Zucker rein?"

Auch Krieger (9) beschäftigt sich damit in seinem „Bericht über die Mitteilungen von Wildiers Betrachtungen", wobei er konstatiert, daß sie, falls sich dieselben bestätigen sollten, für die gesamte Physiologie von größter Bedeutung sein würden. Gleichzeitig macht er auf einen Widerspruch in Wildiers Schlußfolgerungen aufmerksam: Die Hefe bildet bei ihrer Vermehrung und bei der Gärung kein neues Bios. Dasselbe wird während der Gärung verbraucht, aber nicht neu gebildet. Der Grundgedanke der ganzen Wildiersschen Arbeit ist aber, daß eine Hefeabkochung „Bios" enthält. Dieser Widerspruch, sagt Krieger, harrt weiterer Aufklärung.

Ähnlich wie Fernbach beurteilt auch Windisch (10) die Vorgänge. Er zweifelt nicht an spezifischen Wirkungen kleiner und kleinster Mengen von Stoffen auf die Hefe, die imstande sind, eine Giftwirkung auszuüben und somit der Hefe in schwächster Aussaat eine Entwicklung unmöglich machen. Windisch denkt da in erster Linie an Spuren von Kupfersalzen, die dem destillierten Wasser und eventuell auch den mineralischen Salzen anhaften und aus kupfernen Destillierapparaten bezw. Gefäßen stammen könnten.

Amand (11) tritt als Anhänger der Biostheorie auf und versucht auf Grund von Versuchen nachzuweisen, daß das Bios nicht als Gegengift für etwaige das Wachstum der Hefe hemmende Stoffe aufzufassen ist, sondern nach Ausschaltung aller jener störenden Faktoren die einzige Substanz ist, welche der Hefe die Entwicklung ermögliche. Unklar wird das Bild nur dadurch, daß Amand behauptet, Bios würde von der Hefe verbraucht, ohne daß die Hefe selbst neues Bios erzeuge.

Er läßt Hefe in mit Bios versetzter mineralischer Nährlösung wachsen und versucht, ob das Filtrat neues Wachstum fördert. Dies ist nicht der Fall. Auch beim Kochen lieferte die Hefe kein Bios oder nur verschwindend wenig. — Hätte nun Amand noch einige Tage oder Wochen gewartet, so hätte er der Hefe bezw. der Flüssigkeit „das schönste Bios“ in Form löslichen Eiweißstickstoffes entziehen können. —

Windisch (13) würdigt die Versuche Amands einer eingehenden Besprechung, ohne aber seine Übereinstimmung mit diesen Versuchen zu erklären.

Lindner (16) weist darauf hin, daß es sich bei den von Wildiers unter 8 angeführten Substanzen, u. a. Harnstoff und Pepsin-Pepton, um einen Irrtum handeln müß, wenn Wildiers die Behauptung aufrecht erhält, daß diese das Wachstum der Hefe nicht wie Bios zu fördern vermögen, denn nach Ansicht Lindners sind diese Stoffe geeignet, das Wachstum wesentlich zu unterstützen.

Kossowicz (14) ist nicht einverstanden mit den Behauptungen Wildiers. Verfasser widerlegt durch Versuche mit Einsaat viel geringerer Hefenmengen, als Wildiers sie anwendete, dessen Angabe, daß die Hefe zu ihrer Vermehrung neben Zucker (gereinigter Saccharose) andere organische Stoffe nötig habe, indem er eine bestimmte Anzahl Hefenzellen in eine mineralische Nährlösung einsäte und Wachstum fand. Allerdings beobachtete er dabei keine sichtbare Gärung, wohl aber wurde diese durch tägliches Wiegen der Gärflaschen festgestellt. Sobald außer dem Zucker noch andere organische Stoffe vorhanden sind, bemerkt Verfasser sichtbare Kohlensäureentwicklung.

Auch andere Organismen sind dazu imstande, der Hefe die hierzu nötigen organischen Stoffe zu bieten. Gleichzeitige Einsaat von Hefen und Mykoderma, auch Schimmelpilzen, bewirkt eine starke sichtbare Kohlensäureentwicklung. Sehr bemerkenswert ist dies Ergebnis, nach welchem diese Organismen als Produzenten von „Bios“ auftreten. Kossowicz weist auf die mögliche Verwandtschaft des „Bios“ mit dem Hardenschen Ko-Enzym hin, doch fehlen in dieser Beziehung nach Ansicht von Euler und Lindner die Anhaltspunkte.

Ich fasse zusammen: Kossowicz stellt fest, daß bei Aussaat einer einzigen Zelle in mineralischen Nährlösungen Vermehrung nicht eintritt. Er zeigte, daß in 21 von 22 Versuchen eine Entwicklung ausblieb, wenn nur eine Zelle in solche rohrzuckerhaltigen Nährlösungen eingeimpft wurde, welche ausschließlich anorganische Stickstoffverbindungen enthielten.

Bei Aussaat von einigen hundert Zellen in eine Nährlösung, die den Stickstoff in anorganischer Form enthält, tritt bei seinen Versuchen wohl Vermehrung, aber keine sichtbare Gärung ein. Als Erklärung für diese schwache Vermehrung führt Verfasser an, daß diese hervorgerufen sei infolge der in die Nährlösung mitgebrachten noch unbekannten Substanzen.

Große Hefenmengen, eine Million Zellen und mehr, zeigen sowohl Vermehrung als auch starke sichtbare Gärung.

Kossowicz war der erste, welcher darauf aufmerksam machte, daß die lebengebende Kraft des unbekannten „Bios“ gleichbedeutend sei mit der Einwirkung organischer Stickstoffverbindungen auf Hefekulturen in anorganischen Nährlösungen.

Henry (12) kann sich auf Grund seiner Ausführungen nicht mit den Beobachtungen Wildiers einverstanden erklären. Verfasser arbeitete mit folgenden Hefen: Rohrzuckerhefe aus dem Institut Pasteur, Hefe Logos, Hefe Burton, Berliner Rasse 2 und Saccharomyces Ludwigii, die er in 500 ccm mineralischer Nährlösung kultivierte, indem er 3 Tropfen einer Würzekultur obiger Hefen zusetzte. Die Hefen entwickelten sich und zeigten befriedigende Vermehrung. Wäre nun Wildiers Behauptung richtig, daß die Hefe bei ihrer Vermehrung selbst kein Bios erzeugt, sondern auf das Quantum angewiesen ist, welches mit eingebracht wurde, so dürfte bei schwacher Aussaat aus dieser mineralischen Nährlösung in frische mineralische Nährlösung keine Entwicklung erwartet werden, denn nach Wildiers und auch Amand verzehrt die Hefe das Bios. Verfasser fand aber das Gegenteil und erhielt eine rasche Entwicklung. Hier finde ich zum ersten Mal Übereinstimmung mit der Pringsheimschen Angewöhnungstheorie.

Zu erwähnen sind noch die Arbeiten von Chrzaszcz (17) über das Wachstum von Hefen in mineralischen Nährlösungen, die an und für sich interessant, aber ohne einen neuen Beitrag sind.

In Pringsheims Arbeit „Über die sogenannte Biosfrage und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Nährsalzlösungen“ (18) beweist Verfasser durch ausführliche Versuche die Haltlosigkeit und die Widersprüche der Bios-Theorie. Pringsheim kann sich nicht der Ansicht Wildiers anschließen, daß bei Aussaat geringster Mengen von Hefen das Nichtwachsen nur in dem Mangel an Bios zu suchen sei.

Wenn bei größerer Einsaat Hefenentwicklung eintritt, so ist dies dadurch zu erklären, daß durch Absterben einer Anzahl von Zellen infolge Zerfall ihres Eiweißes organisch gebundene Nährstoffe in die

Lösung übergehen, die den überlebenden Zellen Wachstum und Vermehrung ermöglichen. Wir haben hier denselben Vorgang wie bei den Wildiersschen Versuchen, nur daß dieser „Bios“ in Form von Hefenwasser zusetzt.

Bei geringer Impfgabe ist die Menge des mitgebrachten Eiweißes zu gering, um anfängliches Wachstum möglich zu machen.

Pringsheim stellt fest, daß Hefe, welche zum erstenmal in mineralische Nährlösung eingebracht wird, trotz reichlicher Aussaat erst nach längerer Zeit Gärung zeigte. Wird nun aus dieser Nährlösung in frische mineralische Nährlösung übergeimpft, so stellt sich die Gärung schon nach wenigen Tagen ein. Es hatte also eine Angewöhnung stattgefunden. Solche durch mehrere Generationen vorbereitete Hefe säte Pringsheim einzeln nach dem Hansenschen Verdünnungsverfahren aus und fand von 10 Kölbchen, die geimpft wurden, 8 mit einem, 1 mit zwei und 1 mit keinem Hefefleck. Pringsheim beweist durch diese Versuche, daß es die Angewöhnung ist, welche der Hefe die Assimilation des Ammoniakstickstoffes ermöglicht und ihr zur Vermehrung verhilft.

Ide veröffentlicht in „Über Wildiers Bios“ gemeinsam mit Devloo ausgeführte Arbeiten (19). Nach seiner Überzeugung gibt es keinen Stoff, der wie Bios Entwicklung und Gärung von Hefezellen in mineralischen Nährlösungen fördert. Verfasser bezeichnet auf Grund der mit Devloo ausgeführten Versuche Bios als eine organische stickstoffhaltige Substanz. Er fand sie außer in den Quellen, die Wildiers angibt, noch im käuflichen „Lecithin pure“ der Firma Givaudan in Lyon, welches nach Hoppe-Seyler aus Eidottern bereitet wird.

Devloo führt seine Versuche aus, indem er 125 g mineralische Nährlösung nach Wildiers mit Hefe impft (ohne Angabe der Zellenzahl). Zwei bis drei Wochen hindurch beobachtet er einen minimalen Tagesverlust von 0,05—0,01 g CO_2. Setzt er dann eine sterile bioshaltige Flüssigkeit hinzu, so tritt nach 48 Stunden intensive Gärung ein, die auch Ausdruck im täglichen Gewichtsverlust findet: diesen notiert er in einem Falle mit 0,1, 0,5, 1,0, 0,55, 0,3 g usw.,

Verfasser stellt als erstes Ziel seiner und seiner Schüler Arbeiten auf, Bios in reiner Form darzustellen und durch Chemiker näher zu charakterisieren.

Darüber sind inzwischen zehn Jahre vergangen, ohne daß es mir möglich war festzustellen, daß es Ide und seinen Schülern gelungen

wäre, die Wissenschaft in dieser Beziehung eine Bereicherung erfahren zu lassen.

Äußerst wertvolle Forschungen über die Stickstoffernährung der Hefen und deren Stickstoffumsatz fand ich bei Pringsheim „Über die Stickstoffernährung der Hefe“ (21). Als Stickstoffsubstanz zur Züchtung einer gärfähigen Hefe bezeichnet Verfasser u. a. Ammoniak in Form von Salzen. Diese Verbindungen sind uns chemisch in ihrer Zusammensetzung vollständig bekannt.

Nach Pringsheim steigt die Gärwirkung wachsender Hefe bei Zusatz von Pepton als Stickstoffquelle mit wachsender Stickstoffkonzentration. Bei Leucin, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak verringert sich die Gärwirkung mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung von einem Minimum der Stickstoffgabe an, das für die Ernährung der Zellen nicht mehr ausreicht. Mit wachsender Peptonkonzentration steigert sich auch die Zahl der geernteten Hefenzellen, analog der Steigerung der Gärwirkung. Bei Leucin, Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak fällt die maximale Zahl der Hefenernte nicht mit höchster Stickstoffkonzentration zusammen. Der Stickstoffgehalt der Hefenernte ist von der Konzentration der Lösung an Stickstoff ziemlich unabhängig — unabhängiger als der Stickstoffverbrauch der Hefe während der Gärung. Verfasser erklärt dies durch den Austritt von Stickstoff aus der Hefe während der Gärung, der bei Bestimmung des Verbrauches stets berücksichtigt werden muß. Dieser wird durch Berechnung ermittelt. Es wird zunächst der Rest-Ammoniakstickstoff der Lösung durch Destillation mit Magnesia bestimmt. Zieht man diesen von dem Stickstoffgehalt der Lösung ab, den man vor Ansetzen des Versuches feststellte, so hat man den Stickstoffverbrauch. Durch eine Kjeldahlbestimmung wird der Stickstoffgehalt der Hefe ermittelt. Addiert man nun diesen zu dem Rest-Ammoniakstickstoff der Lösung, so ist die Differenz zwischen der Summe und dem ursprünglichen Stickstoffgehalt der Lösung als der von der Hefe ausgeschiedene organische Stickstoff anzusehen.

Bei geringer Hefeaussaat kann der Stickstoffverbrauch nach abgeschlossener Gärung den Stickstoffgehalt der Hefe um ein Mehrfaches übertreffen. Dies ist das Verhältnis von Stickstoffumsatz zu Stickstoffansatz. Zwischen Stickstoffverbrauch und Gärwirkung besteht kein direktes Verhältnis. Eine gärende Hefe, die durch große Einsaat am Wachstum verhindert ist, verhält sich ebenso wie eine aus minimaler Einsaat herangewachsene.

Bei Vergärung reiner Zuckerlösungen und großer Aussaat erfolgt Stickstoffaustritt erst nach der Zeit der Hefeerschöpfung. Der Stickstoffgehalt einer Hefe hängt nicht vom Stickstoffgehalt ihrer Trockensubstanz ab, sondern ist nach Pringsheim von dem Prozentgehalt an Trockensubstanz oder Zellwasser abhängig. Die Hefe ist imstande, ihre Energie lediglich aus dem Zerfall der Kohlenstoffquelle zu schöpfen, sie vermag aber auch Energie aus der Spaltung der Stickstoffquelle zu gewinnen, wenn diese nämlich in höher molekularer Form als im Ammonium-Ion z. B. als Aminosäure geboten wird.

Von Interesse für die Frage des Wachstums von Hefen in mineralischen Nährlösungen ist ferner Lindets Arbeit: „Le déchet de la fermentation alcoolique" (27). Nach Lindet ist die Proteinsynthese offenbar aus Ammoniak oder Amidstickstoff in Gegenwart von Zucker allein sehr schwierig. Sind jedoch außer den Mineralsalzen und Ammoniumsulfat bis zu 2 % Kohlenstoffverbindungen wie Gummi-arabikum, Tannin, Roggengummi, Huminsubstanzen oder die Farbstoffe des gebrannten Zuckers vorhanden, so tritt schnelle Gärung, hohe Hefeausbeute (bis auf das Dreifache) ein und der nicht der Alkoholgärung anheimfallende Zucker ist dreimal geringer. Unter diesen Umständen ist die Hefezelle imstande, sich ihre Zellulose, ihr Glykogen leichter zu verschaffen, und verfügt über mehr Kraft, Ammoniakstickstoff in Protein umzuwandeln. Die Ergebnisse sind nach Angabe des Verfassers die gleichen wie in Hefenwasser, Pepton, Malzkeimabkochung, Bierwürze oder Traubenmost, auch ist die Hefenernte etwa dieselbe wie in vorgenannten Lösungen und auch der Ausfall des anderweitig verbrauchten Zuckers nicht viel schwächer.

Nach den Versuchen des Verfassers betrug die Hefenernte pro 100 ccm mineralischer Nährlösung mit Saccharose als Kohlenstoffquelle 0,8 g. Wurden der gleichen Lösung leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen zugesetzt, so erhöhte sich die Hefenernte bei Zusatz von:

arabischem Gummi . . .	auf	3,3	g
Roggengummi	„	2,4	„
Tannin	„	2,1	„
Torfhumus	„	2,5	„
gebranntem Rohrzucker .	„	2,2	„
gebrannter Handelsglukose	„	2,1	„

Die Ernten sind berechnet auf 100 g verschwundene Glukose.

Als Gesamtergebnis zeigt sich, daß Rohrzucker ein schlechter Nährstoff für Hefe ist, und daß sich in seiner Gegenwart Ammoniak-

stickstoff nur mühsam in Proteine umwandelt. Dies ändert sich, wie Lindet festgestellt haben will, wenn man dem Zucker leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen zusetzt. Der Aufbau der Proteine erfolgt dann nach seiner Ansicht fast ebenso schnell und leicht wie in Gegenwart organischer Stickstoffsubstanzen.

Experimenteller Teil

In nachfolgenden Ausführungen habe ich mir die Aufgabe gestellt, an der Erweiterung der Kenntnis der Lebenstätigkeit der Hefen und verwandter Organismen bei schwächster Aussaat in mineralischen Nährlösungen zu arbeiten.

1. Kapitel.

Hefevermehrung und Gärung in mineralischen Nährlösungen mit Zucker als einziger Kohlenstoffquelle

Die meinen Versuchen zugrunde liegende Hefe ist Saccharomyces vini Oppenheimer Kreuz Nr. 2 der Sammlung des hiesigen Institutes. Es ist dieselbe Hefe, die auch Pringsheim zu seinen Versuchen verwendete. Ein Teil der nachfolgenden Versuche bezweckte die Nachprüfung der Pringsheimschen Resultate, mit denen ich meine Ergebnisse in Übereinstimmung bringen konnte, obwohl ich auf einem anderen Wege zum Ziele gelangte. Diese Arbeiten erschienen mir wertvoll, um Vergleichswerte für meine späteren unter gleichen Bedingungen angestellten Versuche zu gewinnen.

Als Nährsubstrat verwendete ich die Laurentsche Lösung mit 5% Zucker (als einziger Kohlenstoffquelle), die im Liter enthielt:

0,75 g K_2HPO_4
5,00 g $(NH_4)_2SO_4$
0,10 g $MgSO_4$

Die Aussaatmengen der Hefen betrugen 5, 50, 500, 1000, 2500 und 5000 Zellen auf je 10 ccm Nährlösung. Die Zählungen erfolgten mittels der Zeißschen Hefezählkammer. Die Richtigkeit der Aussaatmengen wurde kontrolliert durch Aussaaten auf Gelatineplatten mit organischem

Nährsubstrat (Bierwürze), somit gleichzeitig Prüfung auf Entwicklungsfähigkeit des verwendeten Hefematerials als auch auf die Richtigkeit der Aussaatmengen. Sämtliche Versuche wurden doppelt im Reagenzröhrchen durchgeführt. Durch Mikroskopieren ganz geringer Quantitäten (je einer Platinöse) wurde der Tag der Sprossung und durch tägliche Beobachtung bei Wahrnehmung des Aufsteigens von Kohlensäurebläschen der Tag des Eintritts der sichtbaren Gärung notiert. Nach 40 tägiger Versuchsdauer im Brutzimmer bei 25—28° C wurden die Versuche abgeschlossen und durch Zählen mittels der Zeißschen Hefenzählkammer die Anzahl der im Kubikzentimeter enthaltenen Hefenzellen ermittelt. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die angestellten Versuche.

Tabelle 1

Vermehrung und Gärung von Weinhefe in mineralischer 5 prozentiger Zuckerlösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,10 g $MgSO_4$

Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Millionen Zellen
5	—	—	—
50	3	10	21
500	2	7	22
1000	2	6	23
2500	2	6	25
5000	2	6	30

Eine Aussaat von 5 Zellen in mineralische Nährlösung zeigte keine Vermehrung, in Übereinstimmung mit Pringsheim. Bei 50 Zellen Aussaat war am 3. Tage Sprossung und am 10. Tage sichtbare Gärung eingetreten. Bei 500 Zellen Aussaat erfolgte die Sprossung einen Tag früher und Eintritt der sichtbaren Gärung schon nach sieben Tagen. Werden 1000, 2500 und 5000 Zellen zur Aussaat gebracht, so tritt eine wesentliche Steigerung der Intensität der Sprossung und früherer Eintritt der sichtbaren Gärung nicht mehr ein. Dieses Ergebnis deckt sich, was Entwicklung bei den verschiedenen Aussaaten anbetrifft, mit den Kossowiczschen Versuchen.

Hinzu tritt noch die von mir zahlenmäßig ermittelte Vermehrung bei den verschiedenen Aussaatmengen. Mit steigender Aussaat wächst auch das Endergebnis und zwar

bei	50 Zellen	Aussaat	21 Mill.	Zellen im Kubikzentimeter
„	500 „	„	22 „	„ „ „
„	1000 „	„	23 „	„ „ „
„	2500 „	„	25 „	„ „ „
„	5000 „	„	30 „	„ „ „

Je mehr Zellen ausgesät werden, um so größer ist die Menge der organischen Stickstoffverbindungen, die der Nährlösung aus abgestorbenen Hefezellen zugeführt wird. Ich gehe dabei von folgendem Grundgedanken aus: In der für Hefevermehrung so ungünstigen mineralischen Nährlösung sterben zunächst die am wenigsten widerstandsfähigen Hefen ab. Die kräftigeren Zellen überleben sie und sind nun imstande, vermittels der aus den Zelleibern ausgetretenen organischen Stickstoffverbindungen sich zu vermehren und die anorganischen Stickstoffverbindungen anzugreifen. Es ist also die vermehrte Zuführung von organischen Stickstoffverbindungen, welche die steigende Hefenernte zur Folge hat. Ich will nicht unerwähnt lassen, daß im hiesigen Institut bei gleicher Hefe in organischer Lösung, Most oder Bierwürze, gezogen 80—100 Millionen Zellen im Kubikzentimeter gezählt werden, was nur auf den Einfluß der organischen Stickstoffsubstanzen zurückzuführen ist.

Nun vermag ich aber die von mir beobachteten Tatsachen, daß sichtbare Gärung in allen Fällen auftrat, wo Vermehrung stattfand, nicht mit der Kossowiczschen Behauptung in Übereinstimmung zu bringen, nach welcher bei Aussaat von nur einigen Hundert Hefenzellen wohl Vermehrung, aber keine sichtbare Gärung eintritt.

Es ließe sich da leicht einwenden, daß durch die von mir gewählte Arbeitsweise in Reagenzröhrchen (die ich vorziehe, weil sie eine schärfere Beobachtung als in größeren und breiteren Gefäßen ermöglicht) durch mehr Wandung ein mechanischer Reiz ausgeübt wird, der von Einfluß auf die Gärung sein dürfte. Ich führe es auf die kleinen Unebenheiten der Reagenzgläser zurück, die eine Ausscheidung der Kohlensäure erleichtern.

Ich sah mich daher veranlaßt, drei größere Versuche mit je 200 ccm Nährlösung in Gärflaschen anzusetzen, die ich wie folgt impfte:

	Ausgesäte Hefezellen	
	auf 10 ccm	auf 200 ccm
Nr. 1	500	10 000
„ 2	5 000	100 000
„ 3	50 000	1 000 000

Die Nährlösung enthielt im Liter:

50 g Zucker
0,75 g K_2HPO_4
5,00 g $(NH_4)_2SO_4$
0,10 g $MgSO_4$

Die Gärflaschen standen 53 Tage bei Zimmertemperatur. Das Brutzimmer konnte infolge des durch die Kriegslage eingetretenen Kohlenmangels nicht mehr geheizt werden. Täglich wurden die Gärflaschen mit Ausnahme der Sonntage gewogen und die Gewichtsabnahmen notiert wie aus Tabelle 2 ersichtlich. Sichtbare Kohlensäureentwicklung trat bei Nr. 1 am 12., bei Nr. 2 am 10. und bei Nr. 3 am 8. Tage ein. Bei allen drei Versuchen stellt sich heraus, daß der Beginn der sichtbaren Kohlensäureausscheidung bei 0,6 g CO_2 aus 200 ccm einsetzt. Es ist anzunehmen, daß sich bis zu dieser Grenze die Kohlensäure in der Flüssigkeit löst. Die Angärung der drei Versuche ist verschieden, und zwar setzt die Gärung um so schneller ein, je größer die Hefeaussaat ist. Jedoch ist das Gärungstempo der drei Versuche unter sich gleich.

Am 53. Tage wurden die Versuche abgeschlossen. Ich stellte bei allen drei Versuchen einen gleichen Gewichtsverlust von 4,8 g fest, d. i. auf 100 ccm Nährlösung, die 5 g Zucker enthielt . . . . 2,4 %
den Alkoholgehalt ermittelte ich bei allen drei Versuchen durch
Destillation mit . . . . 2,6 %
5,0 %

Die Hefenernte filtrierte ich auf gewogenen Filterchen ab und ermittelte nach erfolgter fünfstündiger Trocknung im Trockenschrank bei 105° C die Hefenernte-Trockensubstanz

mit 0,1029 g bei Nr. 1,
„ 0,1058 g „ Nr. 2,
„ 0,1109 g „ Nr. 3.

Die Steigerung der Hefenernte ist nur eine ganz geringe. Das Endresultat kann somit bei allen drei Versuchen als gleich bezeichnet werden. Aber auch in dieser Versuchsreihe tritt erneut der Widerspruch zu der Kossowiczschen Ansicht zutage. Mag sein, daß infolge ungünstig gewählter Gefäße dem Verfasser die bei schwächerer Aussaat (50 Zellen auf 10 ccm) auch naturgemäß schwächere Gärung unsichtbar blieb. Es kann ferner sein, daß es an der Eigenart der zu seinen Versuchen verwendeten Hefenrasse liegt, die bei mittlerer Aussaat so langsam vergärt, daß die aufsteigenden CO_2-Bläschen zu klein sind, um mit dem Auge

Tabelle 2.

3 Gärversuche: Weinhefe in verschiedener Aussaat in mineralischer Nährlösung enthaltend 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ im Liter. 200 ccm Versuchsflüssigkeit — CO_2 Verlust in g —

Anzahl der Tage	Zahl der ausgesäten Hefezellen pro 10 ccm			Anzahl der Tage	Zahl der ausgesäten Hefezellen pro 10 ccm		
	Nr. 1 5000	Nr. 2 50 000	Nr. 3 500 000		Nr. 1 5000	Nr. 2 50 000	Nr. 3 500 000
1	—	—	—	28	—	—	—
2	—	—	—	29	2,8	2,9	2,9
3	—	—	—	30	2,9	3,0	3,0
4	—	—	0,1	31	3,0	3,0	3,1
5	—	—	0,2	32	3,0	3,1	3,2
6	—	0,1	0,3	33	3,1	3,1	3,2
7	—	—	—	34	3,1	3,2	3,3
8	—	0,3	0,6[1])	35	—	—	—
9	—	0,4	0,7	36	3,3	3,4	3,4
10	0,1	0,5[1])	0,8	37	3,4	3,6	3,5
11	0,3	0,6	0,9	38	3,6	3,8	3,7
12	0,6[1])	0,7	1,0	39	3,8	4,0	3,9
13	0,7	0,8	1,1	40	4,0	4,1	4,1
14	—	—	—	41	4,1	4,2	4,2
15	0,9	1,0	1,2	42	—	—	—
16	1,2	1,2	1,4	43	4,2	4,3	4,3
17	1,5	1,4	1,6	44	4,3	4,4	4,4
18	1,7	1,7	1,8	45	4,3	4,4	4,4
19	1,9	1,9	2,0	46	4,4	4,5	4,6
20	2,2	2,1	2,2	47	4,6	4,7	4,7
21	—	—	—	48	4,7	4,7	4,7
22	2,4	2,5	2,6	49	—	—	—
23	2,6	2,6	2,7	50	4,7	4,7	4,8
24	2,7	2,7	2,7	51	4,8	4,8	4,8
25	2,7	2,7	2,7	52	4,8	4,8	4,8
26	2,8	2,7	2,8	53	4,8	4,8	4,8
27	2,8	2,8	2,9				

wahrgenommen zu werden, und erst erkennbar werden, wenn durch größere Aussaat auch die Vergärung stärker einsetzt.

Wie ich indessen durch meine Versuche bewies, verträgt diese Ansicht eine Verallgemeinerung nicht.

Hiermit schließe ich diese Versuche ab und fasse zusammen:

[1]) Eintritt der sichtbaren Kohlensäureentwicklung.

Bei Aussaat einzelner Hefezellen in mineralische Nährlösungen mit Zucker als Kohlenstoffquelle tritt eine Vermehrung nicht ein.

Bei Aussaat von 50 Zellen und mehr in 10 ccm mineralischer Nährlösungen erfolgt Vermehrung. Die Vermehrung erfolgt auf Kosten der abgestorbenen Zellen. Die aus den toten Zellen austretenden organischen Stickstoffverbindungen verhelfen den überlebenden Zellen zum Wachstum und zur Vermehrung.

Je mehr Zellen ausgesät werden, um so intensiver setzt Vermehrung und Gärung ein.

In allen Fällen, in welchen Vermehrung eintrat, beobachtete ich sichtbare Gärung.

2. Kapitel

Hefevermehrung und Gärung in derselben mineralischen Nährlösung

a) Mit Zusätzen von organischen stickstofffreien Substanzen

Im Anschluß an die Lindetschen Arbeiten (27), nach welchen bei Zusatz von leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen den Hefen die Verarbeitung mineralischer Stickstoffverbindungen erleichtert wird und die Vermehrung wie in organischen Nährlösungen vor sich geht, entschloß ich mich, festzustellen, ob diese Zusätze auch bei den Hefen in schwächster Aussaat die Vermehrung ermöglichen. Aus der von Lindet angeführten Versuchsreihe wählte ich zunächst gebrannten Zucker als leichtassimilierbare stickstofffreie Kohlenstoffverbindung. Ich verwendete dazu Rohrzucker, bei welchem ich mich durch eine Kjeldahlbestimmung davon überzeugt hatte, daß derselbe stickstofffrei war. Denselben brannte ich in einer Porzellanschale bis zur dunkelbraunen Färbung über einer Bunsenflamme und löste ihn dann in Wasser auf. Als Nährlösung verwendete ich die gleiche wie in Kapitel 1 beschrieben. Um die günstigste Konzentration für den Zusatz festzustellen, versetzte ich die Nährlösungen mit entsprechenden Quanten gebrannten Zuckers, ausgehend von einer Normallösung, die ich mir zu diesem Zwecke herstellte, um folgende Konzentrationen zu erhalten:

1. 0,1 % gebrannter Zucker
2. 0,05 % " "
3. 0,005 % " "
4. 0,0005 % " "
5. 0,00005 % " "
6. 0,00001 % " "

Als Versuchsgefäße kamen 100 ccm-Erlenmeyerkölbchen zur Verwendung, welche mit je 20 ccm Nährflüssigkeit beschickt wurden. Für jede der oben angeführten Versuchsreihen wurden fünf Kölbchen angesetzt, die mit je einer Zelle pro Kubikzentimeter Flüssigkeit geimpft wurden (d. s. 20 Zellen). Nach dem Impfen wurden die Kölbchen gut umgeschüttelt, um eine Trennung der eingesäten Hefenzellen anzustreben. Die Durchführung war nach dem Prinzip der Hansenschen fraktionierten Kultur gedacht, um aus den event. gewachsenen auf dem Boden sichtbaren Hefenflecken die Zahl der entwicklungsfähigen Zellen bestimmen zu können. Die Kölbchen wurden im Brutzimmer bei 25—28° C 30 Tage aufgestellt und von 10 zu 10 Tagen kontrolliert. In keinem Falle war Wachstum eingetreten mit Ausnahme von zwei Kölbchen, die durch einen Schimmelpilz infiziert waren. Ich komme jedoch auf diesen Fall noch später zu sprechen. Ein nachträglich angestellter Kontrollversuch ergab dasselbe negative Resultat. Ich stellte fest: Der Zusatz von gebranntem Zucker, einer nach Lindet leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindung, ist in keiner Konzentration imstande, meiner Versuchshefe bei schwächster Aussaat das Wachstum in mineralischer Nährlösung zu ermöglichen.

Um aber festzustellen, ob der gebrannte Zucker überhaupt einen günstigen Einfluß auf die Vermehrung auszuüben vermag, verwendete ich die fünf Erlenmeyerkölbchen aus obiger Versuchsreihe, welche 0,1 % gebrannten Zucker enthielten und steril geblieben waren, zu folgendem Versuch. Ich impfte sie wie folgt:

Nr. 1 mit 50 Zellen
„ 2 „ 500 „
„ 3 „ 1000 „
„ 4 „ 2500 „
„ 5 „ 5000 „

Sie wurden ebenfalls im Brutzimmer bei 25—28° C aufgestellt. Schon bei der ersten Kontrolle nach 10 Tagen war in allen Kölbchen Entwicklung und sichtbare Gärung eingetreten. Nach Verlauf von 40 Tagen ergab die Zählung:

Nr.	Hefeaussaat Zellen	Hefeernte Millionen Zellen im ccm
1	50	26
2	500	28
3	1000	30
4	2500	35
5	5000	36

Vergleichen wir nun diese Zahlen mit dem Ergebnis der Tabelle 1, aus welcher ich nachfolgenden Auszug wiedergebe.

Nr.	Hefeaussaat Zellen	Hefeernte Millionen Zellen im ccm
1	50	21
2	500	22
3	1000	23
4	2500	25
5	5000	30

Beim Vergleich mit dieser Versuchsreihe, in welcher die gleichen Hefemengen in mineralische Nährlösung ohne jeglichen Zusatz ausgesät wurden, kommt man zu dem Ergebnis: Gebrannter Zucker, eine stickstofffreie Kohlenstoffverbindung steigert die Hefeernte nur bei reichlicher Hefeaussaat (d. h. über 50 Zellen pro ccm) und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefeernte.

b) Mit Zusätzen von organischen stickstoffhaltigen Substanzen

Nunmehr erweiterte ich meine Versuche auf die folgenden Zusätze, von denen Lindet behauptet, es seien die Entwicklung fördernde leicht assimilierbare Kohlenstoffverbindungen und zwar in folgenden Dosierungen:

Torfhumussaures Ammonium . . .	0,1 % u. 0,01 %
Torfhumussaures Kalium	0,1 % u. 0,01 %
Erdhumussaures Ammonium . . .	0,1 % u. 0,01 %
Erdhumussaures Kalium	0,1 % u. 0,01 %
Tannin	1,0 % : 0,5 % u. 0,1 %

Die Huminsubstanzen wurden nach dem im hiesigen Institut gebräuchlichen Verfahren gewonnen. Zur Darstellung von Erdhumus wurde Komposterde und für den Torfhumus schwarzer Brenntorf verwendet. 2—3 kg Ackererde, bezw. zerkleinerter Torf wurden mit sehr verdünnter Salzsäure übergossen. Die Flüssigkeit muß gerade noch sauer sein. Nach fünftägiger Einwirkung wird abgegossen und mit stark verdünnter Natronlauge übergossen. Die Humussäuren lösen sich nun langsam auf. Nach acht Tagen wird abgehebert, mit Salzsäure schwach angesäuert, die dunkelbraunen ausfallenden Flocken werden abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet. Zwecks Herstellung von torfhumussaurem, bezw. erdhumussaurem Kali wurde die Torfhumussubstanz in $^1/_{10}$-prozentiger Kalilauge gelöst. Torfhumussaures bezw. erdhumussaures Ammonium wurden durch Auflösen in $^1/_{10}$-prozentiger Ammoniaklösung dargestellt.

Außer dieser Versuchsreihe setzte ich noch Parallelversuche an mit abgebauten Eiweißsubstanzen, wie Pepton und Harnstoff, um ihren Einfluß auf die Vermehrung obigen Stoffen gegenüberzustellen.

Tabelle 3.
Vermehrung und Gärung von Weinhefe in mineralischer 5prozentiger Zuckerlösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,10 g $MgSO_4$.

Zusatz	Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Mill. Zellen
0,1 % Tannin . . .	5	—	—	—
Desgl.	50	2	5	26
Desgl.	500	2	4	31
Desgl.	1000	2	4	40
Desgl.	2500	2	4	40
0,5 % Tannin . . .	5	—	—	—
Desgl.	50	—	—	—
Desgl.	500	—	—	—
Desgl.	1000	—	—	—
1,0 % Tannin . . .	500	—	—	—
Desgl.	5000	—	—	—
0,01 % torfhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	15
Desgl.	50	2	4	20
Desgl.	500	2	4	21
Desgl.	1000	2	4	25
Desgl.	2500	2	4	23
0,1 % torfhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	26
Desgl.	50	2	4	26
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	28
Desgl.	2500	2	4	34
0,01 % torfhumussaur. Kalium	5	2	5	12
Desgl.	50	2	4	17
Desgl.	500	2	4	16
Desgl.	1000	2	4	18
Desgl.	2500	2	4	22
0,1 % torfhumussaur. Kalium	5	2	5	19
Desgl.	50	2	4	21
Desgl.	500	2	4	19
Desgl.	1000	2	4	21
Desgl.	5000	2	4	28
0,01 % erdhumussaur. Ammonium . . .	5	2	5	17

— bedeutet: keine Entwicklung.

Fortsetzung von Tabelle 3

Zusatz	Hefe-Aussaat auf 10 ccm Nährlösung Zellen	Eintritt der Sprossung nach Tagen	Eintritt der sichtbaren Gärung nach Tagen	Ergebnis der Hefezählung (nach 40 Tagen) Mill. Zellen
0,01 % erdhumussaur. Ammonium . . .	50	2	4	24
Desgl.	500	2	4	20
Desgl.	1000	2	4	31
Desgl.	5000	2	4	30
0,1 % erdhumussaur. Ammonium . . .	5	3	5	16
Desgl.	50	3	4	19
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	30
Desgl.	5000	2	4	32
0,01 % erdhumussaur. Kalium	5	2	5	18
Desgl.	50	2	4	25
Desgl.	500	2	4	21
Desgl.	1000	2	4	34
0,1 % erdhumussaur. Kalium	5	2	4	22
Desgl.	50	2	5	25
Desgl.	500	2	4	26
Desgl.	1000	2	4	30
Desgl.	5000	2	4	38
0,0005 % Pepton . .	5	2	5	27
Desgl.	50	2	4	28
Desgl.	500	2	3	32
0,001 % Pepton . . .	500	2	3	34
0,0015 % Pepton . .	500	2	3	32
0,002 % Pepton . .	500	2	3	44
0,0025 % Pepton . .	500	2	3	40
0,0005 % Harnstoff .	5	2	5	22
Desgl.	50	2	4	30
Desgl.	500	2	3	37
0,001 % Harnstoff . .	500	2	3	37
0,0015 % Harnstoff .	500	2	3	41
0,0020 % Harnstoff .	500	2	3	51
0,0025 % Harnstoff .	500	2	3	44

Ich führte alle Versuche doppelt und zwar in Reagenzgläsern durch, wie bereits in Kapitel 1 beschrieben unter Verwendung der gleichen mineralischen Nährlösung. Die Zählung erfolgte wiederum nach 40

Tagen. Die Ergebnisse stelle ich in Tabelle 3 und Tabelle 4 zusammen. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die angestellten Versuche und ermöglicht einen Vergleich mit den in Kapitel 1 (Tabelle 1 unter gleichen Bedingungen durchgeführten Arbeiten. Wie dort ist Tag der Sprossung, Eintritt der sichtbaren Gärung und Ergebnis der Hefenzählung nach 40 Tagen eingetragen. Die fördernde Wirkung der Zusätze zeigt die wesentlich früher einsetzende Sprossung und sichtbare Gärung bei gleichen Hefeaussaatmengen und in der letzten Spalte die gesteigerten Hefeernten.

Zwecks Vergleich der in gleicher Nährlösung jedoch ohne Zusätze ausgeführten Versuche mit gleichen Aussaatmengen siehe Tabelle 1.

In Tabelle 4 habe ich zwecks besserer Übersicht der Endergebnisse die Aussaatmengen, Zusätze und Hefeernten zusammengestellt. Bei 1,0 und 0,5 % Tannin trat infolge Giftwirkung überhaupt keine Entwicklung ein, 0,1 % Tannin verbessert namentlich bei stärkerer Aussaat. Torfhumussaures Ammonium verbessert die Hefeernte etwas mehr als torfhumussaures Kali. Erdhumussaures Ammonium wirkt wie erdhumussaures Kali und letzteres wieder besser als torfhumussaures Kali.

Pepton und Harnstoff beeinflussen die Hefenernte in auffallend günstiger Weise, wie dies in keinem andern Versuch der Fall ist. Die Ernte steigt langsam mit der Gabe an Pepton und Harnstoff. Die günstige Wirkung prägte sich aber auch aus in der kräftigeren Sprossung und dem schnellen Eintritt der sichtbaren Gärung.

Im Anschluß an diese Versuchsreihe leitete ich eine neue ein und zwar mit den gleichen Zusätzen, aber in anderer Dosierung wie oben, in der gleichen mineralischen Nährlösung, um festzustellen, bei welchen Verdünnungen dieser Zusätze die Wirkung derselben aufhört. Es wurde gewählt Tannin 0,005, 0,001, 0,0001 und 0,00001 %. Als Vertreter der Huminsubstanzen erdhumussaures Kali, welches die besten Resultate ergab. Dieses wurde wie folgt gegeben: 0,05, 0,001, 0,0005, 0,00005 %. Um die Grenze der günstigen Einwirkung organischer Stickstoffverbindungen wie Pepton und Harnstoff auf die Vermehrung der Hefe bei schwächster Aussaat in mineralischer Nährlösung zu ermitteln, wurden Pepton und Harnstoff in zwei weiteren Verdünnungen gegeben und zwar 0,00005 und 0,000001 prozentig.

Zur Aussaat gelangt bei dieser Versuchsreihe pro ccm Flüssigkeit eine Zelle. Verwendet wurden Erlenmeyerkölbchen mit flachem Boden (Durchmesser 5 cm), welche mit 20 ccm Nährlösung beschickt wurden.

Tabelle

Vermehrung von Weinhefe (Millionen im ccm) in 5% mineralischer Zucker-

Aussaat Zellen	0,5 u. 1,0% Tannin	0,1% Tannin	0,01% torfh. Ammon.	0,1% torfh. Ammon.	0,01% torfh. Kali	0,1% torfh. Kali	0,01% erdh. Ammon.	0,1% erdh. Ammon.
5	—	—	15	26	12	19	17	16
50	—	26	20	26	17	21	24	19
500	—	31	21	26	16	19	20	26
1000	—	40	25	28	18	21	31	30
2500	—	40	23	34	22	28		
5000	—						30	32

Das Zählen der Hefezellen erfolgte wie bisher mit der Zeißschen Hefezählkammer und zur Kontrolle wurden Würze-Gelatine-Platten gleichzeitig geimpft. Nach dem Impfen wurde die Flüssigkeit gut umgeschüttelt, damit die ausgesäten Zellen getrennt auf dem flachen Boden des Erlenmeyerkölbchens verteilt werden, wie dies die Hansensche Methode vorsieht. Als Zweck verfolgte ich bei dieser Durchführung, daß bei den wenigen Zellen, die so verstreut lagen, ihre Entwicklung nicht durch die organischen Stickstoffverbindungen etwaiger absterbender Zellen unterstützt werde, sondern daß die Vermehrung lediglich auf Grund der zu der mineralischen 5% Zuckerlösung erfolgten Zusätze zurückzuführen sei. Die entwicklungsfähigen Zellen hatten dann auch in der Tat nach Verlauf von zehn Tagen getrennt liegende Hefenflecke gebildet, welche mühelos gezählt werden konnten. Es dürfte ohne weiteres einleuchtend sein, daß unter den für die Entwicklung der Hefezellen so ungünstigen Verhältnissen in mineralischer Nährlösung nur den stärksten und kräftigsten Zellen Wachstum und Vermehrung möglich ist, um so mehr, als zu berücksichtigen ist, daß die Gaben der die Vermehrung ermöglichenden Zusätze von minimalster Dosierung sind. Hieraus erklärt sich auch, daß von den je für ein Erlenmeyerkölbchen zur Aussaat gebrachten 20 Zellen sich nur ein Teil entwickeln konnte, während bei den Kontrollversuchen auf Gelatineplatten, einem Nährsubstrat, in welchem die Zellen reichlich Stickstoff in organischer Form fanden, alle zur Entwicklung kamen. Für jeden Versuch wurden 5 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 ccm Nährlösung angesetzt.

In Tabelle 5 habe ich die Ergebnisse zusammengestellt.

Die Minimalgaben der Zusätze, bei welchen noch eine Entwicklung möglich ist, liegen für

4.
lösung enthaltend im Liter: 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ u. 0,10 g $MgSO_4$

0,01 % erdh. Kali	0,1 % erdh. Kali	0,0005 % Pepton	0,0005 % Harnstoff
18	22	27	22
25	25	28	30
21	26		
34	30		
	38		

Aussaat 500 Zellen	0,001 %	0,0015 %	0,002 %	0,0025 %	0,0005 %
Pepton . .	34	32	44	40	32
Harnstoff .	37	41	51	44	37

Tannin . . . . . bei 0,0001 %
Huminsubstanzen . „ 0,0001 „
Pepton . . . . . „ 0,00005 „
Harnstoff . . . . „ 0,00005 „

Es waren bei obiger Dosierung in jeder Versuchsreihe (5 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 Zellen) von 100 Zellen noch gewachsen

bei Tannin 16
„ Huminsubstanzen . . . 18
„ Pepton 16
„ Harnstoff 14

Die Hefenernte betrug bei diesen äußersten Gaben

von Tannin . . . . 15 Mill. im ccm
„ Huminsubstanzen . . . 18 „ „ „
„ Pepton . . . . 29 „ „ „
„ Harnstoff . . . . . . 28 „ „ „

Dazu bemerke ich, daß dieses Ergebnis nicht mit den voraufgehenden, unter anderen Umständen erzielten Hefeernten zu vergleichen ist. Der relative Vergleich ist wertvoll, der absolute zweckwidrig.

Aus den Werten von Tabelle 4 und 5 lassen sich die Optimalgaben, bei denen bestes Wachstum erfolgt, festsetzen: für Tannin 0,001 %, darüber und darunter schlechtere Entwicklung, für Huminsubstanzen 0,05 %, darüber und darunter geringere Hefeernten, für abgebaute organische Stickstoffsubstanzen gilt, daß mit steigender Gabe auch das Endergebnis wächst. So erzielte ich bei einem besonders angesetzten Versuch mit hoher Gabe an organischer Stickstoffverbindung, um die Richtigkeit obigen Satzes zu beweisen, eine Entwicklung sämtlicher ausgesäter Zellen, und eine besonders hohe Hefenernte. Die Zusammensetzung der Nährlösung war wie bei den vorhergehenden Versuchen. Die Peptongabe betrug 0,01 %. Angesetzt wurden 5 Erlenmeyerkölbchen

Tabelle 5

Vermehrung von Weinhefe in mineralischer 5proz. Zuckerlösung mit Zusätzen. Hefeaussaat pro ccm 1 Zelle.

Zusatz	Nr. der Erlenmeyer mit je 20 ccm Nährlösg.	Anzahl der Hefekolonien	Ergebnis der Hefezählung nach 40 Tagen (Mill. i. ccm)
Ohne Zusatz	1—5	Es erfolgte bei keinem der fünf geimpften Erlenmeyerkölbchen eine Vermehrung	
Tannin 0,005 %	1	7	
Desgl.	2	13	
Desgl.	3	5	25
Desgl.	4	12	
Desgl.	5	6 i. Sa. 43	
Tannin 0,001 %	1	10	
Desgl.	2	12	
Desgl.	3	10	28
Desgl.	4	16	
Desgl.	5	14 i. Sa. 62	
Tannin 0,0001 %	1	—	
Desgl.	2	2	
Desgl.	3	6	15
Desgl.	4	8	
Desgl.	5	— i. Sa. 16	
Tannin 0,00001 % . . .	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	—
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Erdhumuss. Kali 0,05 % .	1	10	
Desgl.	2	6	
Desgl.	3	12	26
Desgl.	4	12	
Desgl.	5	2 i. Sa. 42	
Erdhumuss. Kali 0,001 % .	1	8	
Desgl.	2	6	
Desgl.	3	5	22
Desgl.	4	7	
Desgl.	5	4 i. Sa. 30	
Erdhumuss. Kali 0,0001 %	1	6	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	6	18
Desgl.	4	6	
Desgl.	5	— i. Sa. 18	
Erdhumuss. Kali 0,00005 %	1	—	

Fortsetzung von Tabelle 5

Zusatz	Nr. der Erlenmeyer mit je 20 ccm Nährlösg.	Anzahl der Hefekolonien	Ergebnis der Hefezählung nach 40 Tagen (Mill. i. ccm)
Erdhumuss. Kali 0,00005 %	2	—	—
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Pepton 0,00005 % . . .	1	5	
Desgl.	2	3	29
Desgl.	3	4	
Desgl.	4	4	
Desgl.	5	— i. Sa. 16	
Pepton 0,000001 % . . .	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	
Harnstoff 0,00005 % . . .	1	4	
Desgl.	2	3	
Desgl.	3	4	28
Desgl.	4	3	
Desgl.	5	— i. Sa. 14	
Harnstoff 0,000001 % . .	1	—	
Desgl.	2	—	
Desgl.	3	—	
Desgl.	4	—	
Desgl.	5	—	

mit je 20 ccm Nährlösung, die je mit 20 Zellen geimpft wurden. Nach 10 Tagen wurden die Hefenflecken ermittelt wie folgt:

Nr. 1 . .	21
„ 2 . .	19
„ 3 . .	22
„ 4 . .	16
„ 4 . .	22
i. Sa.	100

Zählung der Hefeernte nach 40 Tagen ergab 51 Millionen im ccm.

Dieses Ergebnis ist ein erneuter Beweis für die günstige Wirkung von organischen Stickstoffsubstanzen auf die Entwicklung der Hefe.

Nach den Resultaten meiner bisherigen Versuche, bei welchen ich mich der von Lindet als leicht assimilierbar bezeichneten Kohlenstoffverbindungen bediente, trat mir die Frage entgegen, welche Eigen-

schaften des Tannins oder der Huminsubstanzen die günstige Einwirkung auf das Wachstum ausübten. Ich vermutete einen Gehalt an organischen Stickstoffsubstanzen. Ich untersuchte daher die Substanzen nach der Kjeldahl-Methode und ermittelte bei den Humussubstanzen 3,44 % und bei Tannin 1,25 % Stickstoff.

Nunmehr treten die Ergebnisse vorliegender Versuchsreihen in ein ganz anderes Licht, denn nicht die leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen waren es, welche der Hefe bei schwächster Aussaat die Entwicklung ermöglichten, sondern die organischen Stickstoffsubstanzen. Wie schwach die Dosen der abgebauten organischen Stickstoffsubstanzen zu sein brauchen, um der Hefe Wachstum zu ermöglichen, zeigen die voraufgegangenen Versuche.

Bei Harnstoff und Pepton waren nur 0,00005 % erforderlich, um Hefenwachstum zu erzielen.

Entsprechend dem geringeren Gehalte an organischen N bei den Huminsubstanzen und bei Tannin lag die Grenze der Wirksamkeit bei beiden bei 0,0001 %.

An dieser Stelle kann ich es mir nicht versagen, mit einigen Worten auf die Wildierssche Bios-Theorie einzugehen. Bei meinen Literaturstudien fand ich, daß Lindner (16) darauf hinwies, daß es sich bei den von Wildiers angeführten Substanzen u. a. Harnstoff und Pepsin-Pepton, die das Wachstum der Hefe nicht wie „Bios" zu fördern vermögen, um einen Irrtum handeln müsse. Dieser Einwand Lindners besteht zu Recht, wie ich auf Grund meiner voraufgegangenen Versuche nachgewiesen hatte. Die Wildierssche Annahme erfährt dadurch eine erneute Widerlegung.

Der fördernde Einfluß von Spuren organischen Stickstoffs, den ich im Vorstehenden zahlengemäß ermittelte, erklärt auch die Ergebnisse älterer Versuche. Henry (12) fand Wachstum, wenn er drei Tropfen Würze mit Rohrzuckerhefe oder Logos oder Burton oder Berliner Rasse 2 in 100 ccm mineralische Nährsalzlösung eintrug.

Hier zeigt sich wiederum, welch geringe Spuren von den in der Würze enthaltenen organischen Stickstoffsubstanzen genügten, um der Hefe sowohl Wachstum und Vermehrung in mineralischer Nährlösung als auch Assimilation anorganischer Stickstoffverbindungen zu ermöglichen.

Ich erwähnte weiter oben bei den Versuchen, welche gebrannten Zucker als Zusatz enthielten und bei denen bei schwächster Aussaat keine Hefenentwicklung eingetreten war, daß zwei Kölbchen von einem Schimmelpilz infiziert seien. Hier war auch Hefeentwicklung eingetreten.

Die von dem Schimmelpilz an die Lösung abgegebenen Stickstoffverbindungen hatte den Hefen die Vermehrung ermöglicht.

Anschließend führte ich folgenden Versuch durch, wie er bereits ähnlich von Kossowicz beschrieben war. 100 ccm der mineralischen Nährlösung, die meinen bisherigen Arbeiten zugrunde lag — ohne jeglichen Zusatz —, wurde geimpft mit 5 Zellen Kahm- und 5 Zellen Weinhefe. Der Versuch wurde in einer Gärflasche mit Watteverschluß durchgeführt. Die Kahmhefe entwickelte sich nach einigen Tagen sichtbar als Haut. Am 17. Tage trat sichtbare Gärung ein. Die Flasche wurde vom 1. Tage ab mit Ausnahme der Sonntage täglich gewogen. Der Gewichtsverlust wurde notiert und ist in Tabelle 6 niedergeschrieben. Nach 45 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Zu dieser Zeit war ein CO_2-Gewichtsverlust von 2,0 g eingetreten. Der Gewichtsverlust ist hier teilweise auf Wasserabgabe zurückzuführen, da kein Gärverschluß angewendet wurde. Durch Destillation ermittelte ich einen Alkoholgehalt von 2,2 g in 100 ccm. Die Restzuckerbestimmung nach Fehling ergab kein Vorhandensein von Zucker. Da die 100 ccm Nährlösung 5 g Zucker enthielten, so ist die Differenz zum Aufbau der Leibessubstanz neuer Hefezellen und als vom Kahm verarbeitet anzusehen.

Das Wesentliche ist indessen, daß es die vom Kahm ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen waren, welche es der Hefe ermöglichten, sich zu vermehren.

Tabelle 6

Gärverlauf von 5 Zellen Weinhefe in 100 ccm mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 g $MgSO_4$ bei gleichzeitiger Aussaat von 5 Zellen Kahmhefe

Anzahl der Tage	CO_2-Verlust	Anzahl der Tage	CO_2-Verlust	Anzahl der Tage	CO_2-Verlust
1—14	—	25	1,1	36	1,9
15	0,1	26	1,3	37	1,95
16	0,15	27	1,45	38	1,95
17	0,25	28	—	39	2,00
18	0,3	29	1,6	40	2,0
19	0,4	30	1,6	41	2,0
20	0,5	31	1,65	42	2,0
21	—	32	1,75	43	2,0
22	0,7	33	1,80	44	2,0
23	0,8	34	1,85	45	2,0
24	0,95	35	—		

Den Beweis, daß Kahm organische Stickstoffverbindungen an die Lösung abgibt, liefere ich im letzten Teil der vorliegenden Arbeit.

Anhänger der Bios-Theorie schreiben Schimmelpilzen und Kahmhefen die Fähigkeit zu, Bios bilden zu können, während es sich lediglich um ausgeschiedene organische Stickstoffsubstanzen handelt. Daß dabei nicht ein einheitlicher Stoff in Frage kommt, sondern eine Gruppe von komplizierten organischen Substanzen wie Nucleoprotein oder Nucleine, darauf weisen besonders Euler und Lindner (25) hin. Um so wunderlicher erscheint es uns, als Erklärung die unbewiesene Bios-Theorie anzunehmen.

In der Literatur wird des öfteren darauf hingewiesen (u. a. Nägeli u. Pringsheim), daß weinsaures Ammonium auf die Vermehrung der Hefen günstiger wirkt als Ammonium an anorganische Säuren gebunden. Hier handelt es sich um größere Hefenaussaaten. Um nun zu prüfen, ob das Ammonium-Ion in Verbindung mit organischer Säure (organisches Salz) einzelnen in gezuckerte mineralische Nährlösung ausgesäte Hefezellen zum Wachstum verhilft und sich somit anders verhält als das Ammonium-Ion in Verbindung mit einer anorganischen Säure (anorganisches Salz), wurden folgende Versuche angesetzt.

Die bisher verwendete Laurentsche gezuckerte mineralische Nährlösung wurde anstatt mit 5,00 g schwefelsaurem Ammoniak mit 5,00 g weinsaurem Ammoniak versetzt.

In die Lösung wurden nach der üblichen Zähl- und Verdünnungsmethode im sterilen Wasser Hefenzellen eingesät und davon Tröpfchenkulturen angefertigt, derart, daß eine Verteilung von je einer Zelle auf einen Tropfen angestrebt wurde. Diejenigen Tröpfchen, bei denen eine Zelle mikroskopisch nachgewiesen wurde, wurden durch einen Tintenpunkt markiert.

Die Präparate wurden täglich geprüft und da nach acht Tagen keine Entwicklung eingetreten war, so konnte ich, auch auf Grund der starken Lichtbrechung, annehmen, daß die Zellen abgestorben waren.

Es ergibt sich also daraus: Hefe einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung ist zwecks Wachstum und Vermehrung darauf angewiesen, daß der Stickstoff in organischer Bindung zu ihrer Verfügung steht.

Ein Wachstum tritt nicht ein, gleichgültig, ob wir der Hefe das Ammonium-Ion an organische oder anorganische Säure gebunden bieten.

Nunmehr fasse ich die Ergebnisse dieses Kapitels zusammen: Gebrannter Zucker (eine stickstofffreie Kohlenstoffverbindung) vermag einzeln ausgesäten Hefezellen in mineralischer Nährlösung nicht zur

Entwicklung zu verhelfen. Wohl aber fördert Zusatz von gebranntem Zucker bei reichlicher Hefeaussaat, über 50 Zellen pro 10 ccm, und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefeernte.

Geringe Spuren organischer Stickstoffverbindungen von einem Minimum von 0,00005 % ab bei Pepton und Harnstoff helfen der einzelnen Hefe über die Schwelle hinweg und ermöglichen Vermehrung. Bei steigender Gabe wächst auch die Hefenernte. Die wachstumfördernde Wirkung von Tannin und Huminsubstanzen ist auf ihren Gehalt an organischen Stickstoffsubstanzen zurückzuführen.

Gleichzeitig ausgesäte Schimmelpilze und Kahmhefen ermöglichen der Hefe offenbar infolge der von ihnen ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen Wachstum und Vermehrung.

Es ist gleichgültig in bezug auf Wachstum und Vermehrung einzeln ausgesäter Hefenzellen in mineralischen gezuckerten Nährlösungen, ob wir der Hefe das Ammonium-Ion an anorganische oder organische Säure gebunden bieten. Es tritt in keinem Falle Wachstum ein.

Einzeln nach den bisherigen Arbeitsmethoden ausgesäte Hefenzellen vermehren sich in mineralischen Nährlösungen nur, wenn ihnen der Stickstoff in organischer Bindung wenn auch nur in Spuren zur Verfügung steht.

3. Kapitel

Unterschiede im Wachstum bei Aussaat einzelner Zellen in mineralische Nährlösung bei Hefen und verwandten Organismen

Wie ich durch meine voraufgegangenen Arbeiten einerseits feststellte und andererseits aus den Kossowiczschen Versuchen (14) ersah, in denen Mykoderma und Schimmelpilze mit Weinhefe zusammen in mineralische Lösung eingesät waren, zur Entwicklung kamen und letzteren das Wachstum ermöglichten, verhalten sich Hefen und die ihnen nächst verwandten Organismen bei Aussaat einzelner Zellen in mineralische Nährlösungen durchaus nicht gleich. Ich stellte daher auf Grund eigener Versuche in diesem Abschnitt das Verhalten derselben zusammen und zwar für

a) Gärende sporenbildende Hefen,
b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen,
c) Kahmhefen,
d) Schimmelpilze.

a) Gärende sporenbildende Hefen

In den beiden vorhergehenden Kapiteln habe ich diese Frage bereits eingehend behandelt und verweise nur auf deren Inhalt bezw. auf die Zusammenstellung der Ergebnisse am Schlusse jeden Kapitels. Kurz: Bei Aussaat einzelner Zellen gärender sporenbildender Hefe in mineralische Nährlösung tritt Wachstum und Vermehrung nicht ein.

Das Material zu folgenden Versuchen mit nicht sporenbildenden (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilzen verschaffte ich mir durch Fangversuche im Garten des hiesigen Institutes (Sommersemester 1917) Den Endomyces fibuliger erhielt ich aus der Sammlung des Herrn Professor Lindner-Berlin.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen

Als Vertreter dieser Art standen mir eine gewöhnliche Torula und eine rosa Hefe zur Verfügung. Durch Gipsblockkulturen überzeugte ich mich davon, daß dieselben nicht imstande waren, Sporen zu bilden. In Bierwürze und Most eingesät trat keine sichtbare Gärung ein. Die Flüssigkeiten trübten sich leicht während der Entwicklung der Hefen. Nach Abschluß derselben setzten sich die Hefen auf den Boden ab, während die Flüssigkeiten wieder klar wurden.

Ich fertigte von diesen Hefen Reinkulturen in Bierwürze an und säte dann nach dem üblichen Verfahren: Zählen in dem Zeißschen Hefezählapparat, Verdünnungen in sterilem Wasser, einzelne Zellen in mineralische Nährlösung aus. Ich verwendete wieder die Laurentsche Lösung. Diese enthielt im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Ich verwendete dazu Reagenzgläser, die ich mit je 10 ccm obiger Nährlösung beschickte. Die Aussaatmengen betrugen 1, 5 und 50 Zellen pro 10 ccm. Jede Versuchsreihe wurde fünffach ausgeführt. Die Versuche standen im Brutzimmer bei 25—28° C. Die Kulturen wurden täglich scharf beobachtet und bei den geringsten Spuren von sichtbarer Entwicklung mikroskopiert. Die Ergebnisse stellte ich in Tabelle 7 für Torula und in Tabelle 8 für rosa Hefe zusammen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß Torula und rosa Hefen bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung wachsen und sich vermehren. Das Einsetzen des Wachstums und die Wachstumsschnelligkeit ist bei beiden Hefen gleich. Bei beiden Hefen zeigen die Kulturen, die mit einer Zelle geimpft wurden, nach 4—6 Tagen Entwicklung, mit fünf Zellen geimpft nach 3—4 Tagen und mit 50 Zellen geimpft nach

3 Tagen. Mit der steigenden Aussaatmenge setzt auch das Wachstum früher ein.

Tabelle 7

Torula-Hefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ in Reagenzgläsern mit je 10 ccm Inhalt.

Mit einer Zelle geimpft				Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen
1	E			1	E		1—5	E
2	—	E		2—5	—	E		
3	—	—						
4	—	E						
5	—	—	E					

E = Eintritt der Entwicklung

Tabelle 8

Rosa Hefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$ in Reagenzgläsern mit je 10 ccm Inhalt.

Mit einer Zelle geimpft				Mit einer Zelle geimpft				Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen
1	—	—	E	1—3	—	E		1—5	E
2—3	—	E		4	E				
4	E			5	—	—	E		
5	—	E							

E = Eintritt der Entwicklung

c) Kahmhefen

Die Versuche wurden auch hier wie voraufgehend beschrieben angesetzt und eine rein gezüchtete Kahmhefe dazu verwendet. Die Resultate sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Bemerken will ich noch, daß ich diese Versuche dahin erweiterte, daß ich sie in einer zweiten Nährlösung durchführte. Während in der bisherigen Nährlösung der Stickstoff in Form von $(NH_4)_2SO_4$ gegeben war, bietet die zweite Nährlösung den Stickstoff in Form von KNO_3. Wenn ich von dieser Art der Stickstoffgabe bei den voraufgegangenen Versuchen an Hefen absah, so tat ich dies, weil dabei nach Laurent (5) infolge der reduzierenden

Wirkung der Hefe das Nitrat in giftiges Nitrit umgewandelt wird. Nach Laurent zieht daher die Hefe die Ammoniaksalze den salpetersauren Salzen ganz entschieden vor. Hier tritt ein neuer Faktor — die Giftwirkung — in Erscheinung, eine Tatsache, die aber außerhalb des Rahmens dieser Ausführungen liegt. Nach Böttger[1]) bildet Kahm aus salpetersauren Salzen nur Nitrit im untergetauchten Zustand, während bei dem typischen Oberflächenwachstum dieser Fall nicht eintritt.

In der Tat habe ich bei meinen Versuchen trotz mehrmaliger Nachprüfung Nitrit nicht nachweisen können. Bei beiden Nährlösungen

1. mit $(NH_4)_2SO_4$
2. mit KNO_3 als Stickstoffquelle

entwickelte sich die Kahmhefe gleich gut. Bei Aussaat einer Zelle tritt bei beiden Nährlösungen nach 3—4 Tagen, bei einer Aussaatmenge von 5 Zellen nach 2—3 Tagen und bei 50 Zellen nach einem Tage Entwicklung auf.

d) Schimmelpilze

Nunmehr gehe ich zu den Schimmelpilzen über als den den Hefen nächstverwandten Organismen. Aus meinen Fangversuchen wählte ich ein Fusarium, das mir besonders günstig erschien. Das Fusarium ist charakterisiert durch die Bildung sichelförmiger Sporen, die sich auf Basidien entwickeln. Das Fusarium bildete auf mineralischer Nährlösung ein weißes Polster, das sich gegen Ende der Entwicklung schwach rosa färbte. Diese Färbung verschwand, sobald der Pilz durch mehrere Generationen hindurch in gezuckerter mineralischer Nährlösung geführt wurde.

Einzelne ausgesäte Sporen entwickelten sich sehr bald zu einem kräftigen Myzel, welches bei gutem Wachstum dauernd auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit blieb und eine feste Decke bildete. Das Myzel wächst ähnlich wie Penicillium und bildet Sporen wie diese Pilzgruppe. Bodensatz bildete diese Form so gut wie gar nicht.

Veranlaßt durch den Stammbaum der Hefen nach dem Guillermondschen Schema in Euler-Lindner (25) wählte ich noch als Vertreter der Endomyces-Gruppe den Endomyces fibuliger Lindner, dessen Zusammenhang mit den Hefen erst in neuerer Zeit festgestellt wurde. Gerade aus diesem Grunde erschien es mir wertvoll, denselben in meiner Versuchsreihe aufzunehmen.

---

[1]) Im hiesigen Institut festgestellt.

Tabelle 9

Kahmhefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 1,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Zelle geimpft			Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1—3	E		1—2	E		1—5	E
4—5	—	E	3—5	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 9

Kahmhefe in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g KNO_3 und 0,1 $MgSO_4$.

Mit einer Zelle geimpft			Mit fünf Zellen geimpft			Mit fünfzig Zellen geimpft	
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1	E		1—4	—	E	1—5	E
2—5	—	E	5	E			

E = Eintritt der Entwicklung.

Endomyces fibuliger von Lindner (20) auf Brot gefunden, erzeugte auf Gelatine rein weiße Flecken und verflüssigte dieselbe schon nach einer Woche (bei 16—17° C) zum Unterschied von Monilia, für welche Verfasser ihn anfänglich gehalten hatte. In Tröpfchenkulturen mit ungehopfter Würze zeigte sich an den wachsenden Fadenstücken sehr bald die bei den Basidiomyceten besonders bekannt gewordene Schnallenbildung. Am Randgebiete bildeten sich kräftige Zellgruppen mit seitlich aussprossenden, hefeähnlichen Konidien. In drei Wochen alten Kulturen fand Verfasser in der Flüssigkeit dicke Decken vom Aussehen durchtränkter Watte und lockere Bodensätze. In diesen befanden sich sehr viel hefeähnliche Zellen, die von den Myzelfäden der Decke abgefallen waren. Am meisten kommt die Konidienform des Pilzes auf festem Nährboden wie Würzeagar zur Ausbildung. Auf der Oberfläche bildet sich hier ein zartes rein weißes Gespinst. Für die Mehrzahl der Konidien ist die traubenkernartige Gestalt charakteristisch.

Eine Häufung der Konidien erfolgt an den Enden der Pilzfäden. Die Sporen kleben zu Massen zusammen.

Bei Luftzutritt wächst die Konidie fädig aus. An zu längeren Fäden ausgewachsenen Seitensprossen sieht man manchmal oidiumartige Aufteilung. Beim Einsetzen der Gärung werden die fadigen Endstücke zum Sproßmyzel.

Der Pilz bildet Ascosporen. Die Größe der Asci schwankt zwischen 17 und 7 μ. Die hutförmigen Sporen haben eine Größe von 7,2—4 μ. Bei der Kleingärmethode zeigten von verschiedenen gebotenen Zuckerarten etliche keine Gärung, etliche leichte Gärung und nur Rohrzucker eine starke Gärung. Verfasser erörtert zum Schluß die Beziehungen dieses Pilzes zu den Hefen der Gattung Willia. Durch das Gärvermögen steht die vorliegende Art den Willia-Hefen sehr nahe, mit ihnen haben sie ebenfalls die hutförmigen Sporen gemein. Die Gärung von Endomyces fibuliger gibt ein ganz schwaches Aroma nach frischen Äpfeln.

Typisch erschienen mir die Sproßkonidien, die der Endomyces fibuliger untergetaucht im Nährsubstrat bildete, im Gegensatz zu der penicilliumartigen Sporenbildung des Myzels bei Fusarium. Diese Konidien haben Hefenform und wurden für die nachfolgenden Versuche zwecks einzelner Aussaat verwendet. Eine Konidie keimt zunächst zu einem strahlenförmig nach allen Seiten auseinandergehenden Myzel aus, welches nach seiner Vollendung wieder hefenartig sprossende Konidien abschnürt.

Wir haben es hier einmal mit einem typischen Schimmelpilz (Fusarium) und das andere Mal mit einer Form zu tun, deren Zusammenhang mit den Hefen nach obigem Stammbaum besteht (Endomyces fibuliger).

Als Nährlösungen verwendete ich wiederum zwei Arten und zwar sowohl für Fusarium als auch für Endomyces fibuliger

1. mit $(NH_4)_2SO_4$ und
2. mit KNO_3 als Stickstoffquelle.

Die beste Übersicht gewinnt man über die Ergebnisse bei Betrachtung der Tabelle 10 Fusarium und Tab. 11 Endomyces fibuliger.

Bei Fusarium tritt ein Unterschied in der Nährlösung mit $(NH_4)_2SO_4$ und jener mit KNO_3 als Stickstoffquelle nicht auf. In beiden Fällen erkennen wir bei Aussaat einer Spore Entwicklung in 2—3 Tagen, bei einer Aussaatmenge von 5 Sporen in 1—3 Tagen und bei 50 Sporen Aussaat schon nach 24 Stunden.

Bei *Endomyces fibuliger* beobachten wir ebenfalls keinen Unterschied im Wachstum in der einen oder anderen Nährlösung. Bei einer Aussaat von einer Konidie stellen wir Wachstum nach 3—5 Tagen fest, bei 5 Konidien nach 3—4 Tagen und bei 50 Konidien nach 2—3 Tagen. Im Vergleich zum Fusarium ist festzustellen, daß das Wachstum bei *Endomyces fibuliger* nicht ganz so schnell einsetzt.

Tabelle 10

Fusarium in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Spore geimpft			Mit fünf Sporen geimpft				Mit fünfzig Sporen geimpft	
Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tagen	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1	—	E	1	E			1—5	E
2 u. 3	E		2 u. 3	—	E			
4 u. 5	—	E	4 u. 5	—	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 10

Fusarium in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4 5 g KNO_3, 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Spore geimpft			Mit fünf Sporen geimpft				Mit fünfzig Sporen geimpft	
Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tagen	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nr.	Nach 1 Tag
1—2	—	E	1	—	—	E	1—5	E
3	E		2	—	E			
4—5	—	E	3	E				
			4	—	E			
			5	—	—	E		

E = Eintritt der Entwicklung.

Soweit ich auf Grund vorliegender Versuche berechtigt bin, zu schließen, fasse ich zusammen:

a) Gärende sporenbildende Hefen einzeln in mineralische Nährlösung ausgesät, entwickeln sich nicht.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen zeigen einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung langsam einsetzendes und schwach fortschreitendes Wachstum. Man erkennt aus der schwächeren Wachstums-Intensität, daß sie mehr zu den gärenden sporenbildenden Hefen neigen.

c) Kahmhefen, einzeln ausgesät, entwickeln sich gut und zeigen nach der Wachstumsintensität beurteilt, mehr Verwandtschaft mit den Schimmelpilzen.

d) Werden Schimmelpilzsporen einzeln ausgesät, so erfolgt die Entwicklung leicht und schnell.

Tabelle 11

Endomyces fibuliger in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Konidie geimpft			Mit fünf Konidien geimpft			Mit fünfzig Konidien geimpft		
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen
1	—	E	1—2	E		1	E	
2	E		3—4	—	E	2	—	E
3—5	—	E	5	E		3—4	E	
						5	—	E

E = Eintritt der Entwicklung.

Tabelle 11

Endomyces fibuliger in mineralischer Nährlösung enthaltend im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,0 g KNO_3 und 0,1 g $MgSO_4$.

Mit einer Konidie geimpft				Mit fünf Konidien geimpft			Mit fünfzig Konidien geimpft		
Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nr.	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen
1	E			1—3	E		1—2	E	
2—3	—	E		4—5	—	E	3—5	—	E
4—5	—	—	E						

E = Eintritt der Entwicklung.

Für Kahmhefen und Schimmelpilze ist es gleichgültig, ob ihnen die anorganische Stickstoffverbindung in Form von $(NH_4)_2SO_4$ oder KNO_3 geboten werden.

Daß unter ganz gleichen Versuchsbedingungen, gleichen Nährlösungen, Verdünnungs- und Aussaatmethoden bei den Hefen und den ihnen nächst verwandten Organismen so ausgesprochene Unterschiede bestehen, sei hiermit als physiologisches Unterscheidungsmerkmal festgestellt.

Hinsichtlich der Verwandtschaft ergibt sich aus meinen Versuchen an den verschiedenen Sproßpilzen:

Es besteht ein unverkennbarer Zusammenhang zwischen den gärenden sporenbildenden und den nicht sporenbildenden Hefen.

Weit abgerückt von diesen stehen die Kahmhefen. Die Grenze zwischen diesen und den obengenannten Hefen ist besonders scharf ausgeprägt. — An die Kahmhefen schließen sich die Schimmelpilze an, bei denen zweifelsohne in bezug auf ihr Verhalten Verwandtschaft mit den Kahmhefen hervortritt.

Endomyces fibuliger, der nach dem Guilliermondschen Schema in den Stammbaum der Hefen gehört, schließt sich, auf Grund vorliegender Versuche beurteilt, nach seinem Verhalten eng an die Schimmelpilze an und ist weit entfernt von den Hefen.

4. Kapitel

Eine neue Methode, um gärende Hefe bei schwächster Aussaat in mineralischer Nährlösung zur Vermehrung zu bringen

Wir haben bisher erkannt, daß es lediglich die gärenden, sporenbildenden und die Torula-Hefen sind, die im ruhenden Zustande aus einer organischen Lösung in anorganische geimpft, nicht imstande sind zu wachsen und sich zu vermehren. Die Tatsache aber, daß ganz geringe Dosen von organischen Stickstoffverbindungen in mineralischer Nährlösung genügen, um den Verdauungsapparat einer gärfähigen Hefe anspringen zu lassen und dann, wenn er einmal in Tätigkeit ist, ihn in den Stand setzen, auch anorganische Stickstoffverbindungen aufzunehmen und umzusetzen, veranlaßten mich, mich besonders mit diesen Verhältnissen zu beschäftigen.

Ich komme zu dem Schluß, daß wir es hier mit den kompliziertesten Vorgängen im Protoplasma zu tun haben. Besonders in bezug auf den Verdauungsmechanismus kann man die einzelnen Zellen mit Laboratorien vergleichen, deren chemische und mechanische Funktionen uns bisher noch unbekannt geblieben sind.

Es liegt besonders nahe, diesen Verdauungsapparat mit den modernen sehr vollkommenen Verbrennungsmotoren zu vergleichen, wie sie bei Kraftwagen und Flugzeugen Anwendung finden. Die Tätigkeit dieser Konstruktionen aus Menschenhand hat vieles gemein mit dem Verdauungsmechanismus der Zelle, die wir im gewissen Sinne auch als Verbrennungsmotor ansprechen können, namentlich wenn wir das Anspringen eines Verbrennungsmotors vergleichen mit dem Anspringen des Verdauungsmechanismus der Zelle.

Die für leicht vergasbare Brennstoffe wie Benzin eingerichteten Motoren springen nicht an, wenn man ihnen z. B. einen schwerer vergasbaren Brennstoff wie Benzol zuführt. Setzt man indessen den Motor erst mit Benzin (einem leicht vergasbaren Brennstoff) in Gang und führt, ist er einmal in Tätigkeit, Benzol (schwerer vergasbaren Brennstoff) hinzu, so verbrennt er auch diesen. Dieser Vorgang ist zu vergleichen mit jenen Vorgängen, die ich besonders in Kapitel 2 besprochen habe.

In gleicher Weise verhält sich der Verdauungsmechanismus (Verbrennungsmotor) der Hefe. Derselbe springt nicht an, wenn wir die ruhende Hefe aus organischer Lösung in mineralische Nährlösung bringen. Hier findet die Zelle, deren Bau viel komplizierter ist, als die sinnreichsten technischen Gebilde von Menschenhand, anstatt organischer Stickstoffverbindungen nur Stickstoff in anorganischer Verbindung vor. Es ist uns bereits bekannt, daß Hefe anorganische Stickstoffverbindungen schwerer umsetzt, als Stickstoff in organischer Bindungsform. Findet nun aber die Hefe eine Spur organischer Stickstoffverbindungen vor, so sehen wir, daß ihr Verdauungsapparat anspringt, und ist er einmal im Gange, auch anorganische Stickstoffverbindungen assimiliert.

Ich stelle fest, daß es Spuren organischer Stickstoffverbindungen sind, die den Verdauungsorganismus der Hefe anspringen lassen. Nun folgere ich weiter, daß diese es sind, die der Hefe über den toten Punkt hinweghelfen, den Verdauungsapparat in Gang zu bringen.

Der Energieaufwand, der zur Verarbeitung anorganischer Stickstoffverbindungen erforderlich ist, ist entschieden größer als bei der Verarbeitung organischer Stickstoffverbindungen. Wird nun der Hefe eine Spur organischer Stickstoffverbindungen geboten, so bedeutet dies eine Energieersparnis. Die ruhende Hefe besitzt nicht die Energie, anorganische Stickstoffverbindungen zu verarbeiten, wohl aber reicht dieselbe aus, Stickstoff in organischer Form umzusetzen. Damit ist aber der Verdauungsmechanismus in Gang gesetzt, und läuft er einmal, verarbeitet er auch anorganische Stickstoffverbindungen.

Bisher bediente man sich bei der Aussaat der Hefe zweckmäßig einer Ausgangskultur, die sich nicht mehr im Vermehrungs-, sondern im ruhenden Zustande befand, da in letzterem Falle das Zählen und Verdünnen leichter vor sich geht als bei zusammenhängenden Sproßverbänden. Es kamen somit Hefen zur Aussaat, die sich im Ruhestadium befanden, die sich auf dem Boden der Nährflüssigkeit abgesetzt hatten und deren Lebenstätigkeit nur noch eine geringe war, deren Verdauungsapparat somit ruhte. Solche Zellen im ruhenden Zustand aus organischer Nährlösung in anorganische Nährlösung gebracht, kommen in mineralischer Nährlösung nie zur Entwicklung — der Verdauungsapparat springt eben nicht an.

Ist meine Motor-Theorie, auf den Verdauungsapparat der Hefe angewendet, richtig, so müßten Hefenzellen, die sich im Entwicklungsstadium befinden, und die sich noch vermehren und bei denen der Verdauungsapparat noch im vollen Gange ist, einzeln in mineralische Nährlösung gebracht, dort ohne weiteres den anorganisch gebundenen Stickstoff angreifen und verarbeiten. Ich verwendete daher sprossende Hefe, verdünnte, wie bisher üblich, mit sterilem Wasser und schüttelte außerordentlich lange, um die zusammenhängenden Sproßverbände zu trennen. Dann zählte ich erst. Nun erfolgte die Aussaat einzelner Zellen. Das Resultat war ein negatives, die Zellen vermehrten sich nicht, auch mehrfach angesetzte Parallelversuche blieben erfolglos. Lange Zeit vermochte ich mir dieses Ergebnis nicht zu erklären. Es mußte also der Verdauungsapparat während des Schüttelns mit Wasser wieder zum Stillstand gekommen sein. Nun versuchte ich, anstatt wie bisher mit Wasser zu verdünnen, die Verdünnung mit mineralischer 5% Zucker enthaltender Nährlösung vorzunehmen. Ich vermutete, daß durch das plötzliche Eintragen der Hefe aus der organischen Nährlösung in Wasser osmotische Störungen im Protoplasma und somit auch im Verdauungsapparat eingetreten seien. Die osmotischen Störungen dürften eintreten durch Auswaschen organischer Stickstoffverbindungen aus der Hefe. Die so geschwächte Hefe in ein mineralisches Nährmedium gebracht, welches ihr weit weniger zusagt, als organische Nährlösung, kommt dort nicht zur Entwicklung, wohl aber bei Gegenwart kleiner Mengen organisch gebundenen Stickstoffs.

Neue Versuche, die wie folgt ausgeführt wurden, waren von Erfolg gekrönt. Sprossende Hefe aus Bierwürze wurde mit Laurentscher mineralischer Nährlösung verdünnt, gezählt und einzeln ausgesät. Es wurden 30 Erlenmeyerkölbchen mit je 20 ccm mineralischer Nährlösung beschickt.

Letztere enthielt wie immer im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 5,00 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $MgSO_4$. Dann wurden dieselben nach dem Prinzip der Hansenschen fraktionierten Kultur je mit einer Zelle geimpft. Die Kölbchen standen bei Zimmertemperatur. Nach acht Tagen wurden dieselben geprüft.

Es fanden sich:

ohne Hefenflecken	4	Kölbchen
mit 1 „	23	„
mit 2 „	3	„
	29 Hefenflecke in 30	Kölbchen,

die Verdünnung war also richtig. Nach 14 Tagen trat sichtbare Gärung ein. Nach 40 Tagen wurde die Hefenernte gezählt; sie ergab 24 Millionen Zellen im ccm.

Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt, sie ergaben das gleiche Resultat und bestätigten die Richtigkeit meiner Annahme.

Zur Nachprüfung der bisherigen Ergebnisse setzte ich folgende Versuche in Tröpfchenkulturen nach Lindner an:

Es wurden von jeder Versuchsreihe 3 Präparate mit je 12 Tröpfchen angelegt.

1. Ausgereifte ruhende Weinhefe aus einer Würzekultur, die nach beendeter Gärung sich am Boden abgesetzt hatte, wurde, nachdem sie gezählt war, nach dem bisher üblichen Verdünnungsverfahren mit sterilem Wasser in mineralische Nährlösung derart ausgesät, daß beim Ansetzen von Tröpfchenkulturen durchschnittlich auf je ein Tröpfchen eine Zelle kam. Solche Tröpfchen, in denen mit Sicherheit unter dem Mikroskop nur eine Zelle erkannt war, wurden durch Tintenstriche auf der Oberseite des Deckgläschens markiert. Täglich wurden die Tröpfchen beobachtet, es war jedoch keine Entwicklung zu erkennen. Nach 14 Tagen schloß ich auf Grund der starken Lichtbrechung der Zellen, daß diese abgestorben seien.

Um aber dem Einwand zu begegnen, das Ausgangsmaterial sei zu alt und nicht mehr genügend lebensfähig gewesen, legte ich von dem gleichen Material Tröpfchenkulturen in Würze an. Schon am zweiten Tage war in allen Tröpfchen, die mit einer Zelle beschickt und durch Tinte auf der Außenseite des Deckgläschens markiert waren, rege Sprossung zu erkennen. Nach 4 Tagen waren die Tröpfchen mit Hefenzellen gefüllt.

2. Sprossende Weinhefe aus einer noch in Gärung befindlichen Würzekultur wurde nach der Zählung in der üblichen Weise mit sterilem

Wasser verdünnt und derart in mineralische Nährlösung ausgesät, daß die angestrebte Verteilung von je einer Zelle auf ein Tröpfchen bei den meisten derselben gelang. Solche Tröpfchen, in denen sich mit Bestimmtheit nur eine Zelle befand, wurden wiederum mit einem Tintenpunkt auf der Außenseite des Deckgläschens markiert. Die Präparate wurden täglich beobachtet. Am zweiten Tage stellte ich fest, daß bei mehreren Zellen eine kleine kümmerliche Tochterzelle ausgestülpt wurde, was den Eindruck einer zum Stehen gekommenen Keimung machte. Bis zu 14 Tagen wurde die Beobachtung fortgesetzt, indes eine Weiterentwicklung fand nicht statt.

3. Eine sprossende Weinhefe aus einer in Gärung befindlichen Würzekultur wurde nicht wie bisher mit sterilem Wasser verdünnt, sondern mit mineralischer Nährlösung und zwar derart, daß bei Anfertigung der Tröpfchenkulturen durchschnittlich auf ein Tröpfchen eine Zelle kam. Diejenigen Tröpfchen, in denen nach der Aussaat mit Sicherheit nur eine einzige Zelle erkannt wurde, erhielten auf der Oberseite des Deckgläschens eine Markierung durch einen Tintenpunkt. Bei täglicher Beobachtung konnte ich in allen Tropfen bald Sprossung feststellen. Daß die Entwicklung nicht so üppig war wie bei dem Kontrollversuch mit Würze in der Versuchsreihe 1, erklärt sich ohne weiteres aus den ungünstigeren Lebensbedingungen, welche die Hefe in mineralischer Nährlösung vorfindet. Nach drei Tagen waren in allen Tropfen normal entwickelte Sproßverbände zu beobachten und nach sechs Tagen erkannte ich bereits makroskopisch in jedem Tröpfchen einen deutlich sichtbaren Hefenfleck.

Ein Anfüllen des ganzen Tropfens mit Hefenzellen, wie dies nach vier bis sechs Tagen in Würze der Fall ist, erfolgte selbst nach Verlauf von 14 Tagen nicht. Der Grund dafür liegt, wie ich schon mehrfach erwähnte, darin, daß die Lebensbedingungen in mineralischen Nährlösungen nicht so günstig sind wie in organischen und deshalb die Hefeernte hier geringer ausfällt wie in organischen Nährlösungen.

4. Ich gliederte nun noch einen weiteren Versuch an, um das Verhalten jener anderen Organismen, wie nichtsporenbildende (Torula) Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilze einzeln in mineralische Nährlösung ausgesät bei täglicher Beobachtung unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen zu prüfen.

Da sich bei den voraufgegangenen Versuchen in Kapitel 3 die oben genannten Organismen alle gleich verhielten, wählte ich zu den nachfolgenden Tröpfchenkulturen die Kahmhefen als Vertreter derselben.

Es wurden wieder wie bei den voraufgehenden Versuchen drei Tröpfchenkulturen im hohlen Objektträger mit je 12 Tröpfchen angelegt. Verdünnung erfolgte nach der alten Methode mit sterilem Wasser, darauf Einsaat in mineralische Nährlösung und Markierung derjenigen Tröpfchen, in denen durch mikroskopische Prüfung nur eine Zelle nachgewiesen wurde, vermittels eines Tintenpunktes auf der Oberfläche des Deckgläschens. Schon am zweiten Tage waren die typischen langen Sproßverbände quer über die Oberfläche des Tröpfchens zu erkennen und nach drei Tagen erstreckte sich die Entwicklung über die gesamte Oberfläche. Auch an dieser Stelle will ich es nicht unerwähnt lassen, wie auffällig es ist, daß sich die Kahmhefe auch in dieser Beziehung diametral anders verhält als die gärenden sporenbildenden Hefen.

Ehe ich zu den Schlußfolgerungen dieses Kapitels übergehe, kann ich es mir nicht versagen, die Pringsheimsche Angewöhnungsmethode zu erwähnen. Bekanntlich gelang es Pringsheim durch mehrmaliges Überimpfen reichlicher Hefenmengen in mineralische gezuckerte Nährlösungen durch mehrere Generationen hindurch die Hefe derart anzupassen, daß einzeln ausgesäte Hefenzellen in mineralischer Lösung zur Entwicklung kamen. Ich prüfte die Pringsheimsche Methode mehrfach nach. Alle von mir in dieser Richtung ausgeführten Versuche mit nach den Vorschlägen Pringsheims vorbereiteter Hefe liefen auf das gleiche Resultat hinaus. Nunmehr will ich versuchen, diese Vorgänge in Beziehung zu setzen mit dem weiter oben ausgeführten Vergleich des Verdauungsmechanismus der Hefe mit dem modernen Verbrennungsmotor der der Technik. Benötigt man in der Technik einen Verbrennungsmotor, der mit schwer vergasbarem Brennstoff arbeiten soll, so konstruiert man seinen Vergaser dementsprechend, man paßt ihm also den Brennstoff an. Dann springt dieser Motor mit dem schwer vergasbaren Brennstoff sogleich an und man hat es nicht nötig, wie bei meinen weiter oben gemachten Ausführungen, ihn erst mit einem leicht vergasbaren Brennstoff auf Touren zu bringen und, läuft er, ihm dann den schwerer vergasbaren Brennstoff zuzuführen, den er dann gleichfalls verbrennt. Er wurde also durch Menschengeist angepaßt. Ganz anders liegt der Fall bei der Hefe; sie besitzt die Fähigkeit, sich selbst anzupassen, d. h. sie vermag ihren Verdauungsapparat (Verbrennungsmotor) auf den schwerer vergasbaren Brennstoff selbst einzustellen — aus eigener Kraft. Daß dies nicht im Handumdrehen möglich ist, ersieht man aus der Notwendigkeit, welche bedingt, daß Pringsheim die Hefe erst durch mehrere Generationen hindurch in mineralischer Nährlösung züchtet.

Nunmehr komme ich zum Abschluß dieses Kapitels. Ich fasse zusammen:

Der Verdauungsapparat der Hefe wird verglichen mit dem modernen Verbrennungsmotor in der Technik. Die Analogie tritt besonders hervor, wenn man das Anspringen des Verdauungsmechanismusses vergleicht mit dem Anspringen des Motors.

Der für einen leicht vergasbaren Brennstoff konstruierte Motor springt nicht an, wenn ihm ein schwer vergasbarer geboten wird. Führt man dem Motor aber zuerst einen leicht vergasbaren Brennstoff zu und, ist er auf Touren gebracht, einen schwerer vergasbaren, so verarbeitet er auch diesen. Ebenso die Hefe. Der Verdauungsapparat kommt nicht in Gang, wenn ihr im ruhenden Zustand Stickstoff in anorganischer Form geboten wird. Enthält aber die Nährflüssigkeit eine Spur N in organischer Form, so springt der Verdauungsapparat an und verarbeitet dann auch anorganische N-Verbindungen.

Einen Motor kann man durch Umbildung des Vergasers für schwer vergasbaren Brennstoff anpassen. Die Hefe besitzt die Fähigkeit — aus sich selbst heraus —, ihren Verdauungsapparat an die Verarbeitung von anorganischen N-Verbindungen zu gewöhnen — Pringsheimsche Angewöhnungsmethode.

Bei der von mir ausgearbeiteten Methode handelt es sich in der Hauptsache darum, den in organischer Nährlösung in Tätigkeit befindlichen Verdauungsmechanismus der Hefe nicht zum Stillstand kommen zu lassen, wie dies einmal bei ruhenden am Ende der Entwicklung befindlichen Hefezellen der Fall ist, oder wie das andere Mal der in voller Tätigkeit befindliche Verdauungsapparat sprossender Hefenzellen durch Schütteln in sterilem Wasser zum Stillstand gebracht wird.

Auf Grund der im Vorstehenden beschriebenen Versuche und im Anschluß daran gemachten Ausführungen brachte ich den Nachweis der Möglichkeit, Hefenzellen, die aus organischen Nährlösungen stammen — ohne Angewöhnung — bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung zur Entwicklung zu bringen. Bedingung ist:

1. Die Verwendung sprossenden in voller Lebenstätigkeit befindlichen Materials im Gegensatz zur Anwendung ausgereifter Hefezellen, wie es bisher üblich war.

2. Ausschaltung von osmotischen Störungen, wie diese bei der bisherigen Verdünnungs- und Schüttelmethode mit destilliertem Wasser eintraten und vermutlich auf der Auswaschung organischer Stickstoffverbindungen beruhten. Statt dessen Anwendung zuckerhaltiger Mineral-

salznährlösung, bei welcher obige Auswaschungen vermieden werden dürften.

Kahmhefe und Schimmelpilze verhalten sich anders. Bei diesen tritt Wachstum bei Aussaat einzelner Zellen in mineralischer Nährlösung ein.

5. Kapitel

Ernährungsphysiologische Versuche an Hefen und Schimmelpilzen in gezuckerten mineralischen Nährlösungen bei schwächster Aussaat

Pringsheims Arbeit (21) „Über die Stickstoffernährung der Hefe", die einen wertvollen Beitrag zur Ernährungsphysiologie der gärenden sporenbildenden Hefen darstellt, veranlaßte mich zu orientierenden Arbeiten auf gleichem Gebiet an verwandten Organismen wie: nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilzen im Anschluß an meine voraufgegangenen wachstumsphysiologischen Ausführungen. Ich verwendete dazu die uns bereits aus Kapitel 3 bekannten Organismen.

a) Gärende sporenbildende Hefen.

Obwohl diese Hefen bereits eingehend von Pringsheim behandelt wurden, setzte ich noch folgenden Versuch an, um Vergleichswerte für meine weiteren Ausführungen über nichtsporenbildende (Torula-)Hefen, Kahmhefen und Schimmelpilze zu gewinnen.

Als Versuchshefe diente Saccharomyces vini Typus Oppenheimer Kreuz Nr. 2 der hiesigen Sammlung. Die angewendete mineralische Nährlösung enthielt im Liter: 50 g Zucker, 0,75 g K_2HPO_4, 0,10 g $MgSO_4$ und 5,0 g $(NH_4)_2SO_4$.

Durch Destillation mit Magnesia wurde der Gehalt an Ammoniak-Stickstoff genau ermittelt, um Fehlerquellen, die durch irgendwelche Verunreinigungen des $(NH_4)_2SO_4$ entstehen könnten, auszuschalten. Die Stickstoffmenge betrug 119,0 mg in 100 ccm. Die Aussaatmenge betrug 50 Zellen pro 10 ccm d. s. 500 Zellen per Kolben mit je 100 ccm Nährlösung. Die Versuchskolben standen 50 Tage im Brutzimmer bei 25 bis 28° C. Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Versuch abgebrochen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 eingetragen. Zunächst wurde die Anzahl der Zellen in ccm ermittelt, diese betrug 19,5 Millionen. Durch Abfiltrieren der Hefe auf ein gewogenes Filterchen wurde nach fünfstündigem Trocknen bei 105° im Trockenschrank das Gewicht der Hefe-

trockensubstanz auf 16,7 mg bestimmt. Durch Ammoniakdestillation wurde im Filtrat der Rest-Ammoniakstickstoff festgestellt, dieser betrug 110,5 mg. Mithin waren von der Hefe nur 8,5 mg N verbraucht. Dies erschien mir äußerst wenig im Vergleich zu Pringsheims Ergebnissen, doch bei einer so geringen Zuckergabe von nur 5 g auf 100 ccm ist die Kohlenstoffmenge, die der Hefe zur Verfügung stand, eine nur geringe.

Tabelle 12

Stickstoffumsatz der Weinhefe

Aussaatmenge: 50 Zellen pro 10 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500
Stickstoff	„	bestimmt	119,0
Rohrzucker	„	abgewogen	5000
$MgSO_4$	„	„	10
K_2HPO_4	„	„	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniakstickstoff	mg	bestimmt	110,5
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	8,5
Hefetrockensubstanz	„	bestimmt	16,7
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt			19,5
Organischer Stickstoff in der Hefe	mg	bestimmt	3,0
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent		17,7
Organischer Stickstoff der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg	berechnet	5,5
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„	„	116
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 2,8

Wie bekannt, hängt die Stickstoffassimilation vom Hefewachstum und der Gärung ab, die wiederum von der Zuckerkonzentration beeinflußt werden. Wenn ich berücksichtige, daß Pringsheim 1. mit 15% Zuckerlösungen, 2. mit stärkeren Aussaaten arbeitete, so finde ich hier die Erklärung für einen geringeren Stickstoffumsatz, als Pringsheim ihn fand. Nach der Kjeldahl-Methode ermittelte ich den Stickstoffgehalt der Hefe mit 3,0 mg. Nun berechnete ich das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch, d. i. Stickstoff-Ansatz zu Stickstoff-Umsatz: dieser beträgt 1 : 2,8 und paßt zu den Beobachtungen Pringsheims (1 : 3). Erwähnt sei zur Erklärung des Vorstehenden, daß die Hefe nicht allen Stickstoff, den sie aufnimmt, behält. Sie scheidet einen Teil in Form organischer Stickstoffverbindungen wieder aus, der sich

rechnerisch wie folgt ermitteln läßt: Der Ammoniak-Stickstoffverbrauch betrug 8,5 mg. In der Hefetrockensubstanz wurden gefunden 3 mg, somit sind 5,5 mg wieder in Lösung gegangen.

b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen

Als Vertreter dieser Hefen verwendete ich dieselbe Rosahefe wie oben und als Nährmedium die oben angeführte gezuckerte Mineralsalzlösung. Die Aussaatmenge betrug 5 Zellen pro 100 ccm. Der Versuch wurde doppelt ausgeführt in 250 ccm Erlenmeyer-Kolben, die je mit 100 ccm Nährlösung beschickt wurden. Die Versuchsdauer betrug 50 Tage. Die Kolben standen im Brutzimmer bei 25—28° C.

Tabelle 13

Stickstoffumsatz der Rosahefe.

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung		
$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	500
Stickstoff	„ bestimmt	103,5
Zucker	„ abgewogen	5000
$MgSO_4$	„ „	10
K_2HPO_4	„ „	75
B. Nach Beendigung des Versuchs		
Reststickstoff der Lösung als Ammoniakstickstoff	mg bestimmt	97,9
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	5,6
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	10,5
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt		18
Organischer Stickstoffgehalt der Hefe	mg bestimmt	1,5
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent	14,3
Organischer Stickstoff in der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg berechnet	4,1
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„ berechnet	99,4
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz		1 : 3,7

Um den Stickstoffverbrauch genau zu ermitteln, wurde genau wie bei dem voraufgegangenen Versuch der Ammoniak-Stickstoffgehalt der Lösung vor dem Versuch und nach Beendigung desselben durch Ammoniakdestillation ermittelt. Tabelle 13 bietet eine Übersicht über die Ergebnisse. Der umgesetzte Stickstoff ist noch geringer als bei der Weinhefe (8,5 mg), er beträgt nur 5,6 mg. Dementsprechend ist auch die Hefetrockensubstanz mit 10,5 mg und die Anzahl der Zellen im ccm mit 18 Millionen geringer, gegen 16,7 mg Trockensubstanz und 19,5

Millionen Zellen im ccm bei der Weinhefe. Zu berücksichtigen wäre dabei noch, daß die Zellen bei der Rosahefe wesentlich kleiner sind als die der Weinhefe, was ja schon zum Ausdruck kommt aus dem beiderseitigen Gewicht der Ernte-Trockensubstanz und der Anzahl der Zellen im ccm. Eigentümlich ist dann nur, daß bei der Rosahefe keine stärkere Vermehrung eintrat.

Die Rosahefe hat selbst nur wenig Stickstoff angesetzt, 1,5 mg, während sie an die Lösung abgab 4,1 mg. Schon Pringsheim stellte Unterschiede zwischen den verschiedenen gärenden sporenbildenden Hefen fest in bezug auf das Verhältnis des Ansatzes zum Umsatz. Bei der vorliegenden Rosahefe ist es 1 : 3,7, während es unter ganz den gleichen Versuchsbedingungen bei Weinhefe 1 : 2,8 betrug. Daraus schließe ich: der Stickstoffumsatz ist bei Weinhefe im Verhältnis zum Ansatz niedriger als bei Rosahefe. Ferner: Weinhefe vermag unter ganz gleichen Lebensbedingungen in mineralischer gezuckerter Nährlösung in der gleichen Menge Trockensubstanz mehr organischen Stickstoff anzusetzen als Rosahefe und scheidet weniger aus als diese.

c) Kahmhefen

Nunmehr wende ich mich den Kahmhefen zu, die mir infolge ihres schnellen und reichlichen Wachstums trotz ganz geringer Einsaat (5 Zellen in 100 ccm) ein vorzügliches Versuchsobjekt boten. Aus diesem Grunde erweiterte ich auch die Versuchsreihen nach verschiedenen Richtungen. Zunächst führte ich einen Versuch in der gleichen Weise wie die voraufgegangenen bei Weinhefe und Rosahefe auch mit Kahmhefe bei Verwendung derselben Reinkultur wie oben durch. Die Lösung ist die gleiche. Die Aussaatmenge betrug 5 Zellen auf 100 ccm Nährsubstrat. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Der Versuch wurde schon nach 28 Tagen abgebrochen. Da zu dieser Zeit die Kahmhaut durchfiel, betrachtete ich den Versuch als beendet. Die Reststickstoffbestimmung ergab einen Ammoniak-Stickstoffverbrauch von 48,3 mg pro 100 ccm Nährlösung und die Kahmhefentrockensubstanz betrug 532,5 mg in der gleichen Menge Nährflüssigkeit. Im ccm fand ich 350 Millionen Zellen. Der Stickstoffgehalt der Kahmhefe-Ernte wurde mit 34,2 mg ermittelt. Die Kahmhefe hatte 14,1 mg Stickstoff an die Lösung zurückgegeben. Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch, d. i. Ansatz zu Umsatz, berechnet sich danach auf 1 : 1,4. Wenn wir diesem Ergebnis das der Weinhefe mit 1 : 2,8 und der Rosahefe mit 1 : 3,7 gegenüberstellen, so ist die

Tabelle 14

Stickstoffumsatz der Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500
Stickstoff	„	bestimmt	103,5
Zucker	„	abgewogen	5000
$MgSO_4$	„	„	10
K_2HPO_4	„	„	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg	bestimmt	55,2
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	48,3
Hefetrockensubstanz	„	bestimmt	532,5
Zellenzahl im ccm Millionen gezählt			350
Organischer Stickstoff in der Hefe	mg	bestimmt	34,2
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in	Prozent	6,4
Organischer Stickstoff in der Lösung d. i. Stickstoffabgabe der Hefe	mg	berechnet	14,1
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„	„	69,3
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,4

Kahmhefe als ein Organismus anzusprechen, der anorganische Stickstoffverbindungen vorzüglich in organische Stickstoffverbindungen umsetzt, da sie mehr organischen Stickstoff ansetzt, als sie ausscheidet. Dieses tritt deutlich vor Augen, wenn wir in nachfolgender Tabelle die Ergebnisse von Weinhefe und Rosahefe mit denen der Kahmhefe vergleichen.

	Weinhefe	Rosahefe	Kahmhefe
NH_3-Verbrauch	8,5 mg	5,6 mg	48,3 mg
N in der Hefe	3,0 „	1,5 „	34,3 „
N-Abgabe	5,5 „	4,1 „	14,1 „
Trockensubstanz	16,7 „	10,5 „	532,5 „
N-% in der Hefe	17,7 %	14,3 %	6,4 %

Wie schon weiter oben erwähnt, ist es die Trockensubstanzernte bei Kahmhefe, welche mit 532,5 mg auffallend hervortritt. Dann aber auch der Stickstoffansatz in der Kahmhefe von 34,3 mg: er ist um 11,4 mal größer als bei Weinhefe und um 22,9 mal größer als bei Rosahefe. Wenn auch der Prozentsatz an N in der Kahmhefe wesentlich niedriger ist als bei Wein- und Rosahefe, so ist doch die absolute Menge an organischen Stickstoffverbindungen, welche die Kahmhefe aus der gleichen Menge (100 ccm) Nährflüssigkeit, die bei allen Versuchen

zugrunde lag, der aus anorganischen N-Verbindung umgebildet wurde, ganz bedeutend im Verhältnis zu den Leistungen der Wein- und Rosahefe.

Pringsheim hat das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Weinhefe zu ihrem Stickstoffverbrauch in einer Versuchsreihe mit steigender Stickstoffgabe festgestellt. Er verwendete $(NH_4)_2SO_4$ und fand bei einer Stickstoffgabe von 1210 mg $(NH_4)_2SO_4$ auf 100 ccm mineralische Nährlösung das Verhältnis vom Ansatz zum Umsatz mit 1 : 5,6. Dieses steigt auf 1 : 2,1 bei verminderter Stickstoffgabe bis zu 19 mg $(NH_4)_2SO_4$ auf 100 ccm Nährlösung. Hier tritt bei der höheren Stickstoffgabe eine nicht unbedeutende Luxuskonsumtion an Stickstoff zutage. Pringsheim ermittelte, daß Zellvermehrung sowohl als auch die Gärung ihr Optimum weit unter dem Maximum des Ammoniakverbrauchs der Hefezelle finden.

Das von mir aufgestellte Verhältnis vom Stickstoff-Ansatz zum Stickstoff-Umsatz bei Kahmhefe mit 1 : 1,4 ist außer von Schimmelpilzen, auf welche ich später noch zu sprechen komme, meines Wissens von keinem anderen Organismus erreicht als durch die Kahmhefe. Auch dürfte nach meiner Schätzung der Stickstoff-Ansatz bei Kahm am schnellsten erfolgen. Zieht man außerdem die Leistungen an Kahmhefeneubildung, die als Hefenernte-Trockensubstanz in Tabelle 14 als bedeutende veranschaulicht wird, in Betracht, so dürfte die Bearbeitung dieser Frage nicht nur Anregung, sondern auch Aussicht auf Erfolg bei den gegenwärtigen Bemühungen zur Erzielung eiweißhaltiger Futtermittel in Form von Futterhefe bieten. So erkennen wir aus Tabelle 15, daß wir in 100 ccm einer 5%-Zuckerlösung und einer Gabe von 1280 mg $(NH_4)_2SO_4$ entsprechend 246 mg Stickstoff die hohe Hefenernte von 908,6 mg Kahmhefe-Trockensubstanz erzielen. Aus dieser Tabelle ersehen wir ferner die Einwirkung der Höhe der Stickstoffgabe von einem Minimum von 1,8 mg bis zu 984 mg auf die Kahmernte. Das Hefeernteergebnis steigt von 47,7 mg Trockensubstanz bei einer Stickstoffgabe von 1,8 mg bis auf 908,6 mg pro 100 ccm Nährflüssigkeit wie oben erwähnt, bei 246 mg Stickstoffgabe.

Um diese Ergebnisse jenen der Hefen gegenüberzustellen, stellen wir aus Tabelle 15 fest, daß die Trockensubstanz der Kahmhefeernte bei einer Stickstoffgabe von 123 mg 890 mg beträgt, während in der gleichen Menge Nährflüssigkeit (100 ccm) bei einer Stickstoffgabe von 119 mg eine Ernte-Trockensubstanz erzielt wurde von 16,7 mg bei der Weinhefe und von 10,5 mg bei der Rosahefe.

Bei höherer Stickstoffgabe bis zu 984 mg fällt das Ergebnis der Kahmhefeernte wieder. Die durch den Krieg gebotenen Verhältnisse veranlaßten mich, wegen Gasersparnis von den Stickstoffbestimmungen der Ernten abzusehen, indes können wir uns durch Schlüsse aus voraufgehenden und nachfolgenden Tabellen davon überzeugen, daß dieser durchweg 5—7 % der Trockensubstanz beträgt und bei steigender Kohlenstoffgabe ein wenig steigt und bei verminderter Gabe an Kohlenstoffverbindungen um weniges sinkt. Recht interessant verläuft die Prüfung der Azidität der Nährlösungen vor und nach Beendigung des Versuches. Der Säuregehalt wurde ermittelt bei sämtlichen Lösungen vermittels Titration mit $Ba(OH)_2$. Als bester Indikator erwies sich Lackmuspapier in Verbindung mit der Tüpfelmethode. Der Säuregehalt wurde ausgedrückt in mg H_2SO_4.

Mit steigender $(NH_4)_2SO_4$-Gabe steigt auch der Säuregehalt der Lösungen und zwar steigt er bis zu der $(NH_4)_2SO_4$-Gabe von 1280 mg, bei welcher wir die höchste Hefenernte von 908,6 mg erzielten. Hier enthält die Lösung, in mg H_2SO_4 ausgedrückt, die Maximalmenge von 334,68. Bei der weiteren Steigerung der $(NH_4)_2SO_4$-Gabe sinkt mit der abnehmenden Hefenernte auch der Säuregehalt der Lösungen. Die Lösungen reichern sich nämlich um so mehr an Säure an, je mehr $(NH_4)_2SO_4$ gespalten wird, d. h. je mehr Schwefelsäure aus dieser Verbindung frei gemacht wird, dazu kommt noch der Gehalt an organischer Säure aus dem Umsatz der Kohlenstoffverbindung durch die Kahmhefe. Vielleicht ist es die Anreicherung von Säuren, welche der Kahmhefe in der Entwicklung Einhalt gebietet. Es scheint mir nicht ohne Bedeutung, darauf hinzuweisen, daß hier eventuell die Möglichkeit vorliegt, durch Zusatz von Kalksalzen die frei werdende Schwefelsäure abzubinden zwecks Weiterentwicklung der Kahmhefe zur Erhöhung der Hefeernten.

Nunmehr wende ich mich dem Zuckerverbrauch der Kahmhefe zu. In vorliegender Versuchsreihe ergab die Restzuckerbestimmung, die ich nach der Fehlingschen Methode durch Titration durchführte, daß bei einer Stickstoffgabe von 246 mg 4559 mg Zucker verbraucht waren, während bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg der Zuckerverbrauch 2618 mg und bei einer Stickstoffgabe von 1,8 mg nur 472 mg betrug. In allen Fällen standen der Kahmhefe 4909 mg Zucker zur Verfügung, nur die Stickstoffgabe veränderte sich. Je geringer die Stickstoffgabe, um so geringer ist auch der Zuckerverbrauch. Das energetische Verhältnis, Verhältnis vom Stickstoffumsatz zum Zuckerverbrauch, stellt

Tabelle 15

Stickstoffumsatz der Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit steigender Ammoniumsulfatgabe als Stickstoffquelle

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	20	10
Stickstoff	„ bestimmt	984	492	246	123	61,5	30,8	15,4	7,7	3,6	1,8
Rohrzucker	„ abgewogen	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000
Als Invertzucker nach Fehling	„ bestimmt	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909	4909
$MgSO_4$	„ abgewogen	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4	„ „	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
Säure	mg ausgedrückt in H_2SO_4	3,577	2,5	2,352	2,352	2,202	2,202	2,202	2,058	2,058	2,058

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg bestimmt	—	—	136	—	—	17	—	—	—	—
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	—	—	110	—	—	13,8	—	—	—	—
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	747,2	839,8	908,6	890,0	282,4	234,5	186,9	163,0	104,0	46,7
Säure	mg ausgedrückt in H_2SO_4	208,6	262,8	334,7	278,4	132,2	121,8	116,6	113,1	85,3	76,6
Restzucker als Invertzucker nach Fehling	mg bestimmt	—	—	350	—	—	2291	—	—	—	4437
Zuckerverbrauch	„ berechnet	—	—	4559	—	—	2618	—	—	—	472
Verhältnis der gebildeten Kahmhefe-Trockensubstanz zum Zuckerverbrauch		—	—	1 : 5	—	—	1 : 11,2	—	—	—	—
Ammoniak-Stickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz	mg	—	—	12,1	—	—	5,8	—	—	—	—
Energetisches Verhältnis. Stickstoffumsatz : Zuckerverbrauch		—	—	1 : 41,4	—	—	1 : 190	—	—	—	—

sich bei einer Stickstoffgabe von 246 mg auf 1 : 41,4, während es bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg 1 : 190 beträgt: also proportional bleibt der Zuckerverbrauch nicht, sondern auf die Einheit umgesetzten Stickstoffs berechnet, steigt er bei fallender Stickstoffgabe.

Der Ammoniak-Stickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Kahmhefen-Trockensubstanz beträgt bei einer Stickstoffgabe von 246 mg N 12,1 mg, während er bei einer Stickstoffgabe von 30,8 mg nur 5,8 mg beträgt: hier finden wir, was Pringsheim auch bei Weinhefe feststellte, daß die Kahmhefe bei reichlicher N-Gabe mit Stickstoff Luxuskonsumtion treibt. Das gleiche gilt auch für Zucker. Ich werde darauf an der Hand besonderer zum Nachweis der Zuckerverarbeitung angestellter Versuche zurückkommen.

In der nun folgenden Versuchsreihe sehen wir den Einfluß der steigenden Zuckergabe auf die Kahmhefevermehrung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Ich verwendete zu diesen Versuchen chemisch reine Dextrose. Die Gabe beginnt bei einer Dosis von 62,5 mg auf 100 ccm Nährlösung und steigt bis auf 5000 mg. Der genaue Zuckergehalt wurde durch Titration nach der Fehlingschen Methode ermittelt. Die Stickstoffgabe war in dieser Versuchsreihe bei allen Versuchen gleich, sie betrug 105,9 mg auf 100 ccm Nährlösung. Auffallend tritt auch hier in Erscheinung, wie mit steigender Zuckergabe die Kahmhefeernte von 6,3 mg bis auf 624,7 mg steigt. Mit steigender Zuckergabe als Energiequelle steigt auch der prozentuale Gehalt an Stickstoff in der Kahmhefe. Bei 500 mg Zuckergabe betrug der Stickstoffgehalt 4,8 % und bei 5000 mg Zuckergabe 5,94 %. Dieses hängt mit erhöhtem Stickstoffumsatz zusammen, denn im ersteren Falle wurden 11,08 und im letzteren 45,14 mg anorganischer Stickstoff von der Kahmhefe umgesetzt. Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch (Ansatz zu Umsatz) ist denn auch bei der Zuckergabe von 5000 g Dextrose das Günstigste, 1 : 1,2, ein Ergebnis, welches uns schon aus einer früheren Versuchsreihe bekannt ist (Tabelle 14). Mit verminderter Zuckergabe verschlechtert sich das Verhältnis von Stickstoffansatz zu Stickstoffumsatz. Es beträgt bei 500 mg Zucker 1 : 2,6 und bei 62,5 mg Zucker 1 : 4.

Der Säuregehalt der Lösungen steigt, ausgedrückt in mg H_2SO_4, von 10,78 bei 62,5 mg Zucker bis auf 170,53 bei 5000 mg Zucker. Je mehr Zucker der Kahmhefe zur Verfügung stand, um so größer war der Energiegewinn, welcher ihr ermöglichte, steigend mehr Stickstoff umsetzen zu können, um so mehr wurde auch $(NH_4)_2SO_4$ gespalten und

Tabelle 16

Stickstoffumsatz der Kahmhefe mit Dextrose als Kohlenstoffquelle. Ausgesät wurden 5 Zellen in 100 ccm Nährlösung

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung								
$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500	500	500	500	500	500
Stickstoff	„	bestimmt	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9
Dextrose	„	abgewogen	5000	1000	500	250	125	62,5
„ nach Fehling	„	bestimmt	4520	904	452	226	113	56
$MgSO_4$	„	abgewogen	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4	„	„	75	75	75	75	75	75
Säure in H_2SO_4	„	ausgedrückt	2,06	2,06	2,06	2,06	2,06	2,06
B. nach Beendigung des Versuchs								
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg	bestimmt	60,76	—	94,82	—	—	104,30
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	45,14	—	11,08	—	—	1,60
Hefetrockensubstanz	„	bestimmt	624,7	118,3	86,9	53,7	13,6	6,3
Säure in H_2SO_4	„	ausgedrückt	170,53	56,35	37,73	31,36	17,05	10,078
Restzuckerbestimmung nach Fehling	„		32	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei	zuckerfrei
Dextroseverbrauch	„	berechnet	4488	904	452	226	113	56
Organischer N in der Hefe	„	bestimmt	37,1	—	4,2	—	—	0,4
Organ. N in der Trockensubstanz	%	berechnet	5,94	—	4,8	—	—	—
Organ. N der Lösung d. i. N-Abgabe der Hefe	mg	„	8,04	—	6,88	—	—	1,2
N-Gehalt der Lösung: Anorg. Reststickstoff + Org. Stickstoff	„	„	68,80	—	107,07	—	—	105,5
Verhältnis d. N-Gehaltes der Hefe zum N-Verbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,2	—	1 : 2,8	—	—	1 : 4
Energetisches Verhältnis von Stickstoff-Umsatz zu Zuckerverbrauch			1 : 99,4	—	1 : 38,3	—	—	1 : 35
Ammoniak-Stickstoffverbrauch in mg für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz			7,7	—	12,8	—	—	25,4
Die Kohlenstoffgabe	in mg	berechnet	1808	361,6	180,8	90,4	45,2	22,6
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz			1 : 0,35	1 : 0,33	1 : 0,48	1 : 0,59	1 : 0,30	1 : 0,28
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum N-Gehalt d. Kahmhefetrockensubstanz			1 : 0,021	—	1 : 0,023	—	—	1 : 0,018

Schwefelsäure aus dieser Verbindung frei gemacht, dazu kommt noch die Säurebildung der Kahmhefe aus dem Umsatz des Zuckers.

Das energetische Verhältnis von Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch stellt sich

bei 5000 mg	Zuckergabe	auf	1 : 99,4
„ 500 „	„	„	1 : 38,3
„ 62,5 „	„	„	1 : 35

Mit steigender Zuckergabe erhöht sich der Zuckerverbrauch, aber auch quantitativ der Stickstoffumsatz. Pro Einheit umgesetzten Stickstoffs wird steigend mehr Zucker verarbeitet, je größer die Gabe an Zucker ist.

Der Ammoniakstickstoffverbrauch für 100 mg gebildete Kahmhefetrockensubstanz ist bei gleicher Stickstoffgabe

bei 5000 mg	Zucker	7,7 mg
„ 500 „	„	12,8 „
„ 62,5 „	„	25,0 „

Je geringer die Zuckergabe ist, um so größer ist der Verbrauch an Stickstoff pro Ernteeinheit. Ist die dargebotene Zuckermenge als Energiequelle verbraucht, so ist anzunehmen, daß sich die Hefenzelle Energie aus der energetisch tieferstehenden Stickstoffquelle verschafft und zwar aus den in die Lösungen entlassenen organischen Stickstoffverbindungen, die als Sekrete aufzufassen sind. Vermittels der gewonnenen Energie dürfte dann die Kahmhefe wieder befähigt sein, Ammoniak-Stickstoff umzusetzen.

Pfeffer (6) spricht vom physiologischen Standpunkt aus von Sekreten und Exkreten. Sekrete bedeuten allgemein Ausscheidungen. Exkrete sind indessen Ausscheidungsprodukte, die ohne Nutzen sind. Nach Pringsheim sind die in die Lösung entlassenen Stickstoffmengen Sekrete und können sicherlich zum Aufbau neuer Zellen dienen. In der Annahme der Richtigkeit der Pringsheimschen Behauptung, wird die Kahmhefe auch aus dem Umsatz der in die Lösungen entlassenen organischen Stickstoffverbindungen Energie zu schöpfen vermögen.

Pringsheim stellt den Stickstoff-Stoffwechsel der Hefe als eine Zwischenstufe von den höheren Pflanzen zu den höheren Tieren dar. Die Pflanzen gewinnen ihre Energie durch Kohlensäureassimilation im Licht und sind dabei befähigt, die geringsten Stickstoffkonzentrationen dem Boden zu entziehen, aufzuspeichern und restlos festzuhalten. Das höhere Tier schöpft seine Energie nicht nur aus dem Zerfall der als Nahrung aufgenommenen Fette und Kohlenhydrate, sondern auch aus

den stickstoffhaltigen Substanzen. Hierbei findet ein fortgesetzter Eiweißabbau statt, der sich normalerweise so vollzieht, daß das Tier im Stickstoffgleichgewicht verbleibt und entsprechend der aufgenommenen Menge Eiweißstickstoff die gleiche Menge Stickstoff im Harn ausscheidet.

Ähnlich ist der Vorgang bei der Hefe. Was Pringsheim bei seinen Versuchen mit der Weinhefe und anderen gärenden sporenbildenden Formen feststellt, gilt nach meinen Versuchen auch für die Kahmhefen.

Die Kahmhefe schöpft ihre Energie aus der Veratmung des Zuckers. Vermittels dieser Energie verarbeitet sie anorganische Stickstoffverbindungen. Einen Teil setzt sie in Form organischer Stickstoffverbindungen in Leibessubstanz um, einen Teil scheidet sie als N-Verbindungen in organischer Form in die Lösung wieder aus. Bei einer so geringen Dosis von Zucker wie 62,5 mg ist das Wachstum bald zu Ende. Der zum Aufbau der Leibessubstanz assimilierte Stickstoff betrug nur 0,4 mg, eine minimale Menge, die noch innerhalb der Fehlergrenze liegt. Indes sehen wir aus der Tabelle 16, daß der in die Lösung entlassene Stickstoff 1,2 mg, also das Dreifache, beträgt. Daraus ist anzunehmen, daß der Stickstoffumsatz nach beendetem Wachstum weitergeht. In besonderen Versuchen (Tabelle 20) werde ich später diesen Vorgang behandeln.

Bei einer Zuckergabe von 500 mg wurden 4,2 mg Stickstoff zum Aufbau der Leibessubstanz benötigt, während der an die Lösung abgegebene Stickstoff nur 6,88 mg betrug.

Ähnlich liegen auch die Verhältnisse bei der Zuckergabe von 5000 mg, bei welcher, wie uns die Trockensubstanzangabe zeigt, erhebliches Wachstum stattfand. Zum Aufbau der Zellen wurden hier 37,1 mg Stickstoff verwendet. Die ausgeschiedene Stickstoffmenge von 8,04 mg ist im Verhältnis hierzu eine geringe. Das Wachstum dürfte indessen, da bei Abbrechen des Versuches noch 32 mg Zucker vorhanden waren, nur verlangsamt, aber nicht ganz beendet gewesen sein, weil noch Energie aus dem Zucker zu beziehen war.

Wäre vorstehender Versuch ein oder zwei Wochen später abgebrochen, dann wäre auch in diesem Falle eine erhöhte Stickstoffabgabe an die Lösung zu verzeichnen gewesen.

Die Kohlenstoffverbindungen dienen der Kahmhefe nicht nur als Energiematerial, sondern sind auch ihrerseits an dem Aufbau der Zellen beteiligt. Inwieweit bei den verschiedenen Zuckergaben der Zucker veratmet oder direkt zum Zellaufbau in Betracht kommt, geht aus dem

Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz einerseits und der Menge des gebotenen Zuckers anderseits hervor.

Bei der geringsten Zuckergabe von 62,5 mg kommt auf 1 mg Kohlenstoff 0,28 mg gebildete Hefetrockensubstanz. Dann steigt die Hefetrockensubstanz bis auf 0,59 mg pro 1 mg Kohlenstoff bei einer Zuckergabe von 250 mg. Bei den nun steigenden Zuckermengen von 500, 1000 und 5000 mg erfolgt keine Steigerung der Hefenernte pro angewendete Kohlenstoffeinheit mehr, sondern es scheint stärkere Veratmung (Zucker-Luxuskonsumtion in bezug auf die Erntemenge) einzusetzen, denn aus 1 mg Kohlenstoff werden dann nur noch 0,48, 0,33 und 0,35 Hefetrockensubstanz gebildet.

Bei erhöhten Zuckergaben und damit steigender Vermehrung ist die Zuckerveratmung in bezug auf Stickstoffansatz der Kahmhefe praktisch gleich, denn der Unterschied ist minimal, wie aus dem Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum Stickstoffgehalt der Kahmhefe horvorgeht. Dieses beträgt bei einer Zuckergabe von

62,5 mg 1 : 0,018 und bei 5000 mg 1 : 0,023.

In einer weiteren Versuchsreihe habe ich die ernährungsphysiologischen Verhältnisse der Kahmhefe bei organischer Säure in Form von Apfelsäure als Energiequelle festzustellen angestrebt, während ich in den bisherigen Versuchen ihr Rohrzucker und Dextrose als Kohlenstoffquelle bot. Siehe Tabelle 17. Von einer Dosis von 62,5 mg steigt die Apfelsäuregabe bis auf 1000 mg und die Hefenernte von 4 mg bis auf 152,3. Um einen Vergleich zwischen der gleichen Gabe Dextrose und Apfelsäure exakt durchzuführen, ist es erforderlich, in beiden Fällen die gebotenen Mengen an Kohlenstoff zu berechnen und dann die Hefenernten gegenüberzustellen.

Dextrosegabe		Hefenernte	Apfelsäuregabe		Hefenernte
in mg	enthaltend mg Kohlenstoff	in mg	in mg	enthaltend mg Kohlenstoff	in mg
62,5	22,6	6,3	62,5	22,38	4,0
125	45,2	13,6	125	44,77	9,2
250	90,4	53,7	250	89,55	48,0
500	180,8	86,9	500	179,1	84,8
1000	361,6	118,3	1000	358,2	152,3

Wenn wir diese Aufstellungen miteinander vergleichen, so kommen wir zu dem Schluß, daß ein wesentlicher Unterschied in der Hefenernte je nach der Art der Kohlenstoffgabe, ob Dextrose- oder Apfelsäuregabe, nicht besteht. Soweit mit den übrigen Ergebnissen ein Vergleich möglich ist, kommen wir zu dem Schluß, daß auch hier Übereinstimmung

herrscht, wie dies z. B. aus dem Vergleich der Verhältnisse der Kohlenstoffgabe zur Kahmhefetrockensubstanz hervorgeht. Es ist also gleich, ob wir der Kahmhefe als Kohlenstoffquelle Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure bieten.

Tabelle 17

Stickstoffumsatz der Kahmhefe mit Apfelsäure als Kohlenstoffquelle. Ausgesät wurden 5 Zellen in 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$ . . . mg abgewogen	500	500	500	500	500
Stickstoff . . . „ bestimmt	105,9	105,9	105,9	105,9	105,9
Apfelsäure . . „ abgewogen	1000	500	250	125	62,5
Säure in H_2SO_4 . „ ausgedrückt	80,46	40,52	23,91	7,01	3,52
$MgSO_4$ . . . . „ abgewogen	10	10	10	10	10
K_2HPO_4 . . . „ „	75	75	75	75	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Reststickstoff der Lösnng als Ammoniak-Stickstoff mg bestimmt	80,00	—	100,4	—	104,1
Ammoniak-Stickstoffverbrauch mg berechnet	25,90	—	5,5	—	1,8
Hefetrockensubstanz „ bestimmt	152,3	84,8	48,0	9,2	4,0
Organischer N in der Hefe mg bestimmt	11,38	—	2,0	—	0,4
Organischer N in der Trockensubstanz . . in Prozent berechnet	7,5	—	4,2	—	—
Organischer N der Lösung, d. i. N-Abgabe der Hefe mg berechnet	14,52	—	3,5	—	1,4
N-Gehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff mg berechnet	94,52	—	103,4	—	104,79
Verhältnis des N-Gehalts der Hefe zum N-Verbrauch. Ansatz zu Umsatz	1 : 2,3	—	1 : 2,8	—	1 : 4,5
Säure in H_2SO_4 mg ausgedrückt	63,20	33,32	20,58	14,21	11,26
Ammoniak-Stickstoffverbrauch in mg für 100 mg gebildete Hefetrockensubstanz	17	—	11,5	—	45
Kohlenstoffgabe in mg berechnet	358,2	179,1	89,55	44,77	22,38
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zur Hefe-Trockensubstanz	1 : 0,43	1 : 0,47	1 : 0,54	1 : 0,21	1 : 0,18
Verhältnis der Kohlenstoffgabe zum N-Gehalt der Hefetrockensubstanz	1 : 0,032	—	1 : 0,022	—	1 : 0,018

Da wir im Kahm einen typisch aerobiotischen Organismus vor uns haben, so lag es mir daran, festzustellen, inwieweit Zuckerverbrauch,

Hefenernte und Stickstoffumsatz durch die Größe der Oberfläche beeinflußt wird. Zur Verwendung kamen zwei Nährlösungen mit 100 und 222 mg Stickstoff in 100 ccm Nährlösung. Als Kohlenstoffquelle diente Rohrzucker. Von jeder dieser Nährlösungen wurde eine Kultur in einem Erlenmeyerkolben mit einer Flüssigkeitsoberfläche von 70 mm Durchmesser und ein zweiter mit einer Flüssigkeitsoberfläche von 160 mm Durchmesser je mit 5 Zellen Kahm geimpft. Die Zusammenstellung der Ergebnisse zeigt Tabelle 18.

Tabelle 18

Kahmhefe bei geringer und und großer Oberfläche gewachsen mit verschiedener Stickstoffgabe. Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung					
$(NH_4)_2SO_4$	mg abgewogen	500	500	1000	1000
Stickstoff	„ bestimmt	100,2	100,2	222	222
Rohrzucker	„ abgewogen	5000	5000	5000	5000
Als Invertzucker nach Fehling	„ bestimmt	4909	4909	4909	4909
$MgSO_4$	„ abgewogen	10	10	10	10
K_2HPO_4	„ „	75	75	75	75
Durchmesser der Oberfläche der Nährflüssigkeit in mm		160	70	160	70
B. Nach Beendigung des Versuchs					
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg bestimmt	58,0	51,6	119,1	111
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„ berechnet	42,2	48,6	103,9	111
Hefetrockensubstanz	„ bestimmt	470,9	540,3	833,0	1164,6
Organischer Stickstoff i. d. Hefe	„ „	31,8	35,87	59,84	64,59
Organischer Stickstoffgehalt der Trockensubstanz	in Prozent	7,0	6,6	7,2	5,7
Organischer Stickstoff der Lösung, d. i. Stickstoffabgabe der Hefe . . .	mg berechnet	10,04	12,73	43,06	46,41
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	mg berechnet	68,40	64,33	162,16	157,41
Restzucker als Invertzucker nach Fehling	mg bestimmt	400	524	zuckerfrei	zuckerfrei
Zuckerverbrauch	„ berechnet	4509	4385	4909	4909
Energetisches Verhältnis. Stickstoffumsatz: Zuckerverbrauch		1 : 106,8	1 : 90,2	1 : 47,2	1 : 44,2
Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Hefe zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz		1 : 1,3	1 : 1,4	1 : 1,7	1 : 1,7

Wenden wir uns zunächst der Nährlösung, die 100,2 mg Stickstoff enthält, zu, so fällt uns auf, daß bei größerer Oberfläche auch der Zuckerverbrauch größer ist als bei der kleineren Oberfläche. Bei einer

Oberfläche von 160 mm Durchmesser wurden 4509 mg Zucker verarbeitet und bei 70 mm Oberflächendurchmesser 4385 in 100 ccm Nährlösung. Die Hefetrockensubstanz ist bei größerer Oberfläche geringer als bei kleinerer. Hier tritt in Erscheinung, was ich schon bei einer voraufgegangenen Versuchsreihe zum Ausdruck brachte, daß, je größer der zur Veratmung verbrauchte Zuckeranteil ist, um so geringer fällt derjenige Anteil aus, der zum Aufbau neuer Hefesubstanz verbleibt. Als Folge davon ist anzusehen, daß in der Kultur mit geringerer Oberfläche und größerer Hefenernte auch der Stickstoffansatz und Stickstoffumsatz größer ist als in der Kultur mit größerer Oberfläche.

Bei 70 mm Oberflächendurchmesser beträgt der Stickstoffansatz (der Stickstoffgehalt der Kahmhefe) 35,87 mg und der Stickstoffumsatz 48,6. Bei 160 mm Durchmesser notieren wir einen Ansatz von nur 31,8 mg und einen Stickstoffumsatz von 42,2 mg. Das energetische Verhältnis Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch zeigt, auf die Einheit umgesetzten Stickstoffs berechnet, daß der Zuckerverbrauch bei größerer Oberfläche größer ist als bei kleinerer. Es stellt sich bei 100,2 mg N-Gabe und 160 mm Oberflächendurchmesser auf 1 : 106,8 und bei 70 mm Oberflächendurchmesser auf 1 : 90,2 ein. Das Verhältnis von Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz bleibt mit 1 : 1,3 bezw. 1 : 1,4 wesentlich das gleiche.

Bei der Nährlösung mit 222 mg N, der doppelten Gabe an Stickstoff, haben wir im allgemeinen dieselben Erscheinungen. Zunächst bei größerer Oberfläche stärkere Zuckerveratmung als bei kleinerer Oberfläche. Aus der Restzuckerbestimmung ist dies ohne weiteres nicht ersichtlich, da beide Lösungen nach Beendigung des Versuches zuckerfrei waren. Betrachten wir aber die Kahmhefeernten, so erkennen wir, daß bei der Kultur mit 70 mm Oberflächendurchmesser 1164,6 mg Kahmhefetrockensubstanz und bei der Kultur mit 160 mm Oberflächendurchmesser nur 833,00 mg Kahmhefetrockensubstanz gebildet wurden. In ersterem Falle bei geringerer Oberfläche war der Zuckeranteil, der zum Zellaufbau verblieb, größer als im zweiten Fall, bei welchem infolge größerer Oberfläche auch mehr Zucker veratmet wurde und der Anteil zum Zellaufbau geringer ausfiel.

Der Stickstoffumsatz ist auch hier bei der Kultur mit kleinerer Oberfläche und größerer Hefenernte größer als bei der Kultur mit großer Oberfläche und kleinerer Hefenernte. Dementsprechend verhält es sich auch mit dem Stickstoffansatz. Bei 160 mm Oberflächendurchmesser 59,84 mg und bei 70 mm Oberflächendurchmesser 64,59 mg Stickstoffansatz.

Das energetische Verhältnis Stickstoffumsatz zu Zuckerverbrauch auf 1 mg umgesetzten Stickstoff berechnet, ergibt bei 160 mm Oberflächendurchmesser 1 : 47,2 und bei 70 mm Oberfächendurchmesser 1:44,2 und zeigt uns wiederum den größeren Zuckerverbrauch bei größerer Oberfläche.

Das Verhältnis des Stickstoffgehaltes der Kahmhefe zum Stickstoffverbrauch (Ansatz zu Umsatz) ist wie bei der anderen Reihe wieder gleich, es beträgt bei großer wie kleiner Oberfläche 1 : 1,7.

Vergleichen wir nun die beiden Versuchsreihen mit 100,2 mg und 222 mg Stickstoffgabe untereinander, so kommen wir zu dem Schluß: Es ist ohne Bedeutung für den prozentualen Stickstoffgehalt der Kahmhefe, ob dieselbe mit viel oder wenig Stickstoff gedüngt wird. So ersehen wir denn aus Tabelle 18, daß der Stickstoffgehalt bei allen Versuchen, ob 100,2 oder 222 mg N-Gabe, ob kleine oder große Oberfläche, nur zwischen 6 und 7% schwankt.

Pringsheim stellte bereits für sporenbildende gärfähige Hefen den Satz auf: „Der Stickstoffgehalt der Hefenernte ist von der Konzentration der Lösung an Stickstoff ziemlich unabhängig“. Durch meine obigen Versuche stellte ich die gleiche Gesetzmäßigkeit auch für Kahmhefen fest.

Scharf davon zu unterscheiden ist die Tatsache, daß bei gesteigerter Stickstoffgabe die absolute Ernte an Kahm steigt, so daß durch eine größere Stickstoffgabe auch eine größere Ernte an organischem Stickstoff erzielt wird. Der prozentuale Stickstoffgehalt der Kahmhefe bleibt aber davon unberührt.

In den voraufgegangenen Versuchen war verschiedentlich zu ersehen, daß, wenn einerseits die Entwicklung der Kahmhefen, anderseits die Stickstoffassimilation bereits abgeschlossen war, der Zuckerverbrauch weiter fortging. Wir haben es hier mit Zuckerveratmung zu tun.

Das Ziel der nachfolgenden Versuchsreihen ist, zum Zwecke des vollen Verständnisses für diesen Vorgang, die Sache in einigen besonderen Versuchen anzufassen und zu beleuchten.

Zunächst wurden (siehe Tabelle 19) drei Erlenmeierkolben je mit 100 ccm mineralischer Nährlösung beschickt, die 5, 10 und 15% Dextrose enthielten. Der genaue Zuckergehalt wurde durch Titration nach Fehling ermittelt

auf 4940 mg
9880 „
14820 „

Tabelle 19.

Kahmhefe.

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit

1. 5 % Dextrose,
2. 10 % Dextrose und
3. 15 % Dextrose.

			1.	2.	3.
A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung					
$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500	500	500
Stickstoff	„	bestimmt	100,2	100,2	100,2
Dextrose	„	abgewogen	5000	10000	15000
Dextrose nach Fehling	„	bestimmt	4940	9880	14820
$MgSO_4$	„	abgewogen	10	10	10
K_2HPO_4	„	„	75	75	75
B. Nach Beendigung des Versuchs					
Hefetrockensubstanz	mg	bestimmt	564,0	562,0	608,4
Restzucker nach Fehling	„	„	zuckerfrei	zuckerfrei	4000
Zuckerverbrauch	„	berechnet	4940	9880	10820

Die Kolben wurden wie bei den vorhergehenden Versuchen mit je 5 Zellen Kahmhefe geimpft. Nach 21 Tagen wurde der Versuch abgebrochen, der Zuckerverbrauch ermittelt und durch Abfiltrieren auf gewogenen Filterchen nach fünfstündigem Trocknen bei 105° C die Hefetrockensubstanz bestimmt. Die 5 und 10 % Dextroselösung war zuckerfrei, aller darin befindlicher Zucker war verarbeitet, aber trotz ihres wesentlichen Unterschiedes im Zuckergehalt war die erzielte Hefetrockensubstanz bei beiden gleich, sie betrug 564,0 und 562,5 mg. Im zweiten Falle waren also rund 5 % Zucker mehr veratmet, ohne daß eine Erhöhung der Hefenmenge stattgefunden hatte, ein typisches Beispiel für Zucker-Luxuskonsumtion, d. h. in bezug auf die Hefeernte, denn der verbrauchte Zucker diente lediglich der Atmung und somit nur zur Erhaltung des Lebens der Kahmhefe.

Im dritten Versuch wurden von den ursprünglichen 14 820 mg Zucker noch 4000 mg in der Lösung vorgefunden. Auch hier betrug das Gewicht der Hefetrockensubstanz nur 6084 mg, war also praktisch ziemlich gleich mit den vorhergehenden Resultaten. Wäre der Versuch eine Woche später abgebrochen worden, so wären wahrscheinlich auch die restlichen 4000 mg auf dem Wege der Veratmung verschwunden.

An diese Versuche anschließend wurde eine neue Versuchsreihe angesetzt und zwar 6 Erlenmeyer-Kolben, je beschickt mit 100 ccm mineralischer Nährlösung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 zusammengestellt. Die Nährlösung enthielt 15 % Dextrose. Genau durch die

Fehlingsche Bestimmungsmethode ermittelt, betrug der Zuckergehalt pro Kolben 14299 mg. Die Versuchskolben wurden gleichzeitig geimpft mit je 5 Zellen. Der 1. Kolben wurde nach drei Tagen analysiert

der 2. nach 5 Tagen
„ 3. „ 7 „
„ 4. „ 9 „
„ 5. „ 14 „
„ 5. „ 30 „

Tabelle 20
Kahmhefe

Aussaatmenge: 5 Zellen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung mit 15 % Dextrose.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung

$(NH_4)_2SO_4$ . . .	mg abgewogen	500	500	500	500	500	500
Stickstoff . . .	„ bestimmt	88,90	88,90	88,90	99,90	88,90	88,90
Dextrose	„ abgewogen	15000	15000	15000	15000	15000	15000
„ nach Fehling	„ bestimmt	14299	14299	14299	14299	14299	14299
$MgSO_4$	„ abgewogen	10	10	10	10	10	10
K_2HPO_4	„ „	75	75	75	75	75	75

B. Nach Beendigung des Versuchs

Die Versuche wurden abgebrochen		nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 7 Tagen	nach 9 Tagen	nach 14 Tagen	nach 30 Tagen
Hefetrockensubstanz	mg bestimmt	312,4	395,5	512,6	534,9	596,3	605,5
Restzucker nach Fehling	mg bestimmt	13342	11420	10000	6153	4251	zuckerfrei
Dextroseverbrauch .	„ berechnet	987	2879	4299	8136	10048	14299
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	mg bestimmt	70	64,5	60,5	60,2	60,00	44,00
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	mg berechnet	18,9	24,4	28,4	28,7	28,9	44,9

Es wurden Stickstoffumsatz und Zuckerverbrauch bestimmt. Aus der Tabelle 20 ist ersichtlich, daß nach 9 Tagen die Hefeentwicklung mit 534,9 mg nahezu beendet war, nach 14 Tagen betrug dieselbe 596,3 und nach 30 Tagen 605,5 mg. Bis zum 9. Tage waren 8136 mg Zucker verarbeitet und am 30. Tage war die Lösung zuckerfrei. In der Zeit vom 9. Tage bis zum 30. Tage betrieb die Kahmhefe den Zuckerverbrauch lediglich zum Zwecke der Veratmung. Es wurden in dieser Zeit noch 6163 mg Zucker veratmet, ohne die Hefenernte wesentlich zu erhöhen.

Pro 100 mg erzeugte Trockensubstanz wurden an Zucker verarbeitet in mg

	3 Tagen	5 Tagen	7 Tagen	9 Tagen	14 Tagen	30 Tagen
nach:	306	728	839	1521	1685	2362

Aus dieser Aufstellung ist ersichtlich, daß der Zuckerverbrauch mit jedem Tage pro 100 mg erzeugte Trockensubstanz rapid steigt. Dies erklärt sich durch die größere Menge der zuckerveratmenden Hefenernte.

Ähnlich verhält es sich mit dem Stickstoff. Hier liegt nach Beendigung der Entwicklung der Kahmhefe Stickstoff-Luxuskonsumtion vor. Am 14. Tage waren 28,9 mg Stickstoff verbraucht und am 30. Tage 44,90 mg.

Zum Aufbau der Leibessubstanz war dieser Stickstoff nicht erforderlich. Ferner wissen wir aus meinen voraufgegangenen Versuchen, daß es ohne Bedeutung ist, ob wir der Kahmhefe viel oder wenig Stickstoff zuführen, der Prozentgehalt an Stickstoff wird dadurch nicht beeinflußt, er verbleibt zwischen 6 und 7%. Ich habe ferner in diesen Versuchen nachgewiesen, daß nach bereits beendeter Entwicklung noch Stickstoffumsatz stattfindet. Meine früheren Versuche zeigten, daß dabei Stickstoff in organischer Form von der Kahmhefe in die Lösung ausgeschieden wird. Hier tritt die Analogie mit dem Tierkörper auf. Diese voraufgegangenen Ermittelungen machten die Bestimmungen des löslichen organischen Stickstoffs in der Nährlösung und des organischen Stickstoffs in der Kahmhefe überflüssig, was in Anbetracht des herrschenden Gasmangels zu begrüßen war.

Damit schließe ich die nach den verschiedenen Richtungen erweiterten Versuche über die Kahmhefen ab, um mit einem orientierenden Versuch noch den Schimmelpilzen gerecht zu werden.

d) Schimmelpilze

Als Vertreter der Schimmelpilze verwendete ich wie oben ein Fusarium aus meinen Fangversuchen im Garten des hiesigen Institutes. Als Nährlösung diente dieselbe gezuckerte mineralische Nährsalzlösung, die auch den voraufgehenden Versuchen zugrunde lag. Wie dort wurde auch hier vor dem Versuch der genaue Stickstoffgehalt durch Destillation mit Magnesia ermittelt. Tabelle 21 gibt einen Überblick über die ausgeführten Arbeiten.

Der Versuch wurde nach 30 Tagen abgebrochen. Zunächst wurde durch Abfiltrieren durch ein gewogenes Filterchen und fünfstündiges Trocknen bei 105° C die Fusarium-Trockensubstanz bestimmt. Die Ernte betrug 1436 mg. Der Stickstoffgehalt derselben wurde nach der Kjeldahlmethode ermittelt, derselbe belief sich auf 62,9 mg. Das Filtrat wurde

auf den noch vorhandenen Reststickstoff untersucht und vermittelst Ammoniakdestillation der Stickstoffgehalt der Lösung einerseits mit 24,4 mg und der Stickstoffverbrauch des Fusariums anderseits durch Berechnung mit 79,1 mg festgestellt. Wie die gärenden sporenbildenden (Torula-)Hefen und Kahmhefen setzen auch die Schimmelpilze mehr Stickstoff um, als sie zum Aufbau ihrer Leibessubstanz benötigen. Sie entlassen dann diesen Stickstoff wieder in die Nährlösung. Der Stickstoffumsatz betrug bei Fusarium 79,1 mg, der Stickstoffansatz in dem Pilz war 62,9 mg, somit wurden 16,2 mg Stickstoff wieder an die Lösung abgegeben.

Tabelle 21

Stickstoffumsatz von Fusarium

Aussaatmenge: 5 Sporen pro 100 ccm Nährlösung. Angewendet wurden 100 ccm Nährlösung.

A. Bestandteile in 100 ccm Nährlösung			
$(NH_4)_2SO_4$	mg	abgewogen	500
Stickstoff	„	bestimmt	103,5
Rohrzucker	„	abgewogen	5000
$MgSO_4$	„	„	10
K_2HPO_4	„	„	75
B. Nach Beendigung des Versuchs			
Reststickstoff der Lösung als Ammoniak-Stickstoff	„	bestimmt	24,4
Ammoniak-Stickstoffverbrauch	„	berechnet	79,1
Fusarium-Trockensubstanz	„	bestimmt	1436
Organischer Stickstoff in der Fusarium-Trockensubstanz	„	„	62,9
Organischer Stickstoff der Lösung, d. i. Stickstoffabgabe des Fusarium	„	berechnet	16,2
Stickstoffgehalt der Lösung: Anorganischer Reststickstoff + Organischer Stickstoff	„	„	40,6
Verhältnis des Stickstoffgehaltes des Fusariums zum Stickstoffverbrauch. Ansatz zu Umsatz			1 : 1,3

Das Verhältnis von Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz, d. h. der Stickstoffgehalt des Fusariums zum Stickstoffverbrauch derselben beträgt 1 : 1,3. Nächst den Kahmhefen sind es die Schimmelpilze, die vorzüglich geeignet sind, anorganischen Stickstoff in organischen Stickstoff umzusetzen.

Nunmehr will ich mit einigen Worten den Inhalt dieses Kapitels zusammenfassen.

Von den vorliegenden Organismen betrug das Verhältnis des Stickstoffansatzes zum Stickstoffumsatz:

1 : 2,8 bei gärenden sporenbildenden Hefen
1 : 3,7 „ nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen
1 : 1,3 „ Kahmhefen
1 : 1,3 „ Schimmelpilzen

wie ich auf Grund meiner Versuche unter gleichen Bedingungen und in gleichen Nährlösungen feststellte. Hiernach eignen sich die Kahmhefen am besten zur Gewinnung eines eiweißhaltigen Futtermittels, weil sie den anorganischen Stickstoff bei guter Ausbeute in organischen Stickstoff umsetzen, zumal wegen ihrer Wachstumsschnelligkeit. Die Schimmelpilze scheiden für diesen Zweck vorläufig aus, da sie vom Vieh wegen ihres Geschmackes nicht angenommen werden dürften. Bei den sporenbildenden und nichtsporenbildenden Hefen ist der angesetzte Stickstoff im Verhältnis zum umgesetzten Stickstoff wesentlich geringer als bei der Kahmhefe. Auch bedingen die Hefen einen wesentlich größeren Zuckerverbrauch als die Kahmhefe.

Bei der gleichen Zuckergabe von 5000 mg pro 100 ccm Nährlösung wurden erzeugt:

Von der Weinhefe . . . . 16,7 mg Trockensubstanz
„ „ „ . . . . 10,5 „ „
„ „ Kahmhefe . . . . 532,9 „ „

Aus Tabelle 12—14 sehen wir, daß bei gleicher Stickstoff- und Zuckergabe produziert werden:

	Trockensubstanz	N i. d. Trockensubstanz
von der Weinhefe	16,7 mg	3,0 mg
„ „ Rosahefe	10,5 „	1,5 „
„ „ Kahmhefe	532,5 „	34,3 „

Diese Aufstellung zeigt wiederum die Vorteile der Kahmhefe, die bei gleicher Zuckergabe eine weitaus größere Menge Trockensubstanz produziert als Wein- und Rosahefe.

Für Kahmhefen stellte ich fest, daß Steigerung der Stickstoffgabe auch die absolute Menge der Hefenernte steigert.

Für den prozentualen Gehalt an Stickstoff der Kahmhefe ist es ohne Bedeutung, ob mit viel oder wenig Stickstoff gedüngt wird.

Ist das Wachstum der Kahmhefe beendet, so treibt dieselbe mit dem überschüssigen Ammoniak-Stickstoff Luxuskonsumtion, eine Beobachtung, die Pringsheim bei Hefen machte.

Die Zuckerkonzentration ist von einem Minimum von 5% an, das für den Aufbau der Leibessubstanz der Hefe erforderlich ist, ohne Einfluß auf die Hefenernte. Dieselbe wird durch Erhöhung der Zuckergabe nicht gesteigert. Der Zucker wird restlos veratmet. — Hier liegt Zucker-Luxuskonsumtion vor in bezug auf Hefenernte und Stickstoffgehalt derselben.

Je geringer die Zuckergabe, um so größer ist der Ammoniakstickstoffverbrauch pro 100 mg gebildete Kahmhefe-Trockensubstanz. Der nicht in der Zelle angesetzte Stickstoff wird wieder ausgeschieden.

Die Kahmhefe verschafft sich ihre Energie aus der Verarbeitung des Zuckers.

In bezug auf Hefenernte, Stickstoffumsatz und Stickstoffgehalt ist es gleich, ob der Kahmhefe Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure als Kohlenstoffquelle geboten wird.

Große Oberfläche leistet stärkerer Veratmung des Zuckers Vorschub, somit fällt der für den Zellaufbau verbleibende Zuckeranteil geringer aus. Die Hefenernte vermindert sich. Kleine Oberfläche bedingt geringere Zuckerveratmung und größere Kahmhefenernte.

Schluß: Zusammenfassung

Zum Schluß möchte ich noch einmal die im Laufe der Arbeit gewonnenen Resultate, wie ich sie am Ende eines jeden Kapitels resumierte, im ganzen zusammenstellen:

Werden einzelne Zellen einer gärenden sporenbildenden Hefe in mineralische Nährlösung mit Zucker als Kohlenstoffquelle ausgesät, so tritt, wenn nach den bisherigen Arbeitsmethoden gearbeitet wird,

a) bei Verwendung einer ausgereiften ruhenden Kultur und

b) bei Verwendung sterilen Wassers zur Verdünnung

keine Vermehrung ein.

Bei Aussaat von 50 Zellen (in 10 ccm Nährlösung) und mehr erfolgt Vermehrung. Die Vermehrung erfolgt auf Kosten der abgestorbenen Zellen. Der aus den toten Zellen austretende organische Stickstoff verhilft den überlebenden Zellen zum Wachstum und zur Vermehrung.

Je mehr Zellen ausgesät wurden, um so intensiver erfolgt die Vermehrung.

In allen Fällen, in denen Vermehrung eintrat, beobachtete ich sichtbare Gärung.

Der Zusatz einer stickstofffreien Kohlenstoffverbindung (verwendet wurde gebrannter Zucker nach Lindet) vermag einzeln ausgesäten Hefenzellen in mineralischer Nährlösung nicht zur Entwicklung zu verhelfen.

Wohl aber steigert Zusatz von gebranntem Zucker dieselbe bei reichlicher Hefeaussaat von über 50 Zellen pro 10 ccm Nährlösung und zwar steigt mit der Aussaatmenge die Hefenernte im Gegensatz zu Kulturen in organischen Lösungen, bei welchen die Hefenernten nicht durch die Aussaatmengen beeinflußt werden.

Setzt man jedoch geringe Spuren organischer Stickstoffverbindungen z. B. Pepton und Harnstoff von einem Minimum von 0,00005% ab der mineralischen Nährlösung zu, so hilft dies einzeln ausgesäten Zellen über die Schwelle hinweg und ermöglicht Vermehrung. Bei steigender Gabe von Pepton und Harnstoff wächst auch die Hefenernte.

Die wachstumfördernde Wirkung von Tannin und Huminsubstanzen ist auf ihren Gehalt an organischem Stickstoff zurückzuführen.

Gleichzeitig ausgesäte Schimmelpilze und Kahmhefen ermöglichen der Hefe infolge der von ihnen ausgeschiedenen organischen Stickstoffsubstanzen Wachstum und Vermehrung.

Hefen und verwandte Organismen verhalten sich einzeln in mineralische Zuckerlösung ausgesät verschieden:

a) Gärende sporenbildende Hefen entwickeln sich nicht.
b) Nicht sporenbildende (Torula-)Hefen zeigen, einzeln ausgesät in mineralische Nährlösung, schwache Vermehrung. Man erkennt aus dem verzögerten Wachstum, daß sie verwandtschaftlich mehr zu den gärenden sporenbildenden Hefen neigen.
c) Kahmhefen einzeln ausgesät entwickeln sich gut und zeigen nach dem flotten Wachstum beurteilt mehr Verwandtschaft mit den Schimmelpilzen als mit den gärenden Hefen.
d) Bei einzeln ausgesäten Schimmelpilzsporen erfolgt die Entwicklung leicht und schnell.

Für Kahmhefen und Schimmelpilze ist es gleichgültig, ob ihnen die anorganischen Stickstoffverbindungen in Form von $(NH_4)_2SO_4$ oder KNO_3 geboten wird.

Vorstehende unter a—d ermittelten ausgesprochenen Unterschiede bei Hefen und den ihnen nächstverwandten Organismen stelle ich als Merkmale zur Feststellung der Verwandtschaft fest. Voraussetzung ist, daß nach den bisherigen Kulturmethoden gearbeitet wird.

Nach einer neuen, von mir vorgeschlagenen Kulturmethode kommen einzeln ausgesäte Hefezellen, die aus organischer Nährlösung stammen, ohne Angewöhnung in mineralischer Nährlösung zur Entwicklung. Bedingung ist: 1. Verwendung sprossender in voller Lebenstätigkeit befindlicher Hefe, 2. Ausschaltung osmotischer Störungen, die durch Verwendung des zur Verdünnung bisher üblichen sterilen Wassers entstanden. Statt dessen Verdünnung mit zuckerhaltiger Mineralsalzlösung.

Die Erklärung zu diesen Vorgängen insbesondere der Vergleich des Verdauungsmechanismus der Hefe mit dem modernen Verbrennungsmotor der Technik befindet sich in Kapitel 4 S. 35—42.

Bei Hefen und den ihnen nächst verwandten Organismen ist unter gleichen Versuchsbedingungen, gleichen Nährlösungen bei schwächster Aussaat das Verhältnis vom Stickstoffansatz zum Stickstoffumsatz verschieden. Es beträgt:

1 : 2,8 bei sporenbildenden gärenden Hefen,
1 : 3,7 bei nichtsporenbildenden (Torula-)Hefen,
1 : 1,3 bei Kahmhefen,
1 : 1,3 bei Schimmelpilzen.

Die Kahmhefen eignen sich infolge ihrer Fähigkeit, bei geringstem Zuckerverbrauch anorganischen Stickstoff unter günstigster Ausbeute in organischen Stickstoff umzuwandeln, und infolge ihres schnellen Wachstums zur Gewinnung eines neuen eiweißhaltigen Futtermittels.

Die Erhöhung der Stickstoffgabe steigert bei Kahm auch die absolute Menge der Ernte. Indessen für den prozentualen Gehalt an Stickstoff der Kahmhefe ist es ohne Bedeutung, ob die Stickstoffgabe groß oder klein ist.

Nach beendigtem Wachstum treibt die Kahmhefe mit den überschüssig gebotenen Stickstoffverbindungen der Nährlösung Luxuskonsumtion.

Die Zuckerkonzentration ist von einem Minimum von 5% an, welches zum Aufbau der Kahmhefezellen erforderlich ist, ohne Bedeutung für die Vermehrung, den Stickstoffumsatz und den Stickstoffansatz. Eine Vergrößerung der Kahmhefenernte tritt dann nicht mehr ein, wie Pringsheim auch für Hefen feststellte. Der überschüssige Zucker verschwindet auf dem Wege der Veratmung.

Der Energiegewinn der Kahmhefe erfolgt aus der Verarbeitung des Zuckers und anderer Kohlenstoffquellen.

Es besteht kein Unterschied in der Vermehrung, dem Stickstoffumsatz und dem Stickstoffgehalt der Kahmhefe, gleich, ob man ihr Zucker oder organische Säure in Form von Apfelsäure als Kohlenstoff- bezw. Energiequelle bietet.

In Kahmhefekulturen mit großer Oberfläche wird stärkerer Veratmung des Zuckers Vorschub geleistet. Der für den Zellaufbau verbleibende Zuckeranteil fällt somit geringer aus. Die Folge ist geringere Ernte. Bei Kulturen mit kleinerer Oberfläche ist die Zuckerveratmung geringer und die Kahmhefenernte größer.

Literatur

1. Pasteur. Nouveaux faits concernant l'histoire de la fermentation alcoolique. Comptes rendus, S. 1011, 1858.
2. Duclaux. Observations aux fermentations alcooliques. Comptes rendus, S. 450, 1864.
3. Mayer. Untersuchungen über die alkoholische Gärung des Hefepilzes. Annalen für Physik und Chemie von Poggendorf, S. 293, 1871.
4. Nägeli. Über die Fettbildung bei niederen Pilzen. Sitzungsberichte der Königl. Bayerischen Akademie der Wissenschaften, München, S. 935, 1879.
5. Laurent. Über die Physiologie der Hefen. Ref. Kochs Jahresbericht, S. 55, 1890.
6. Pfeffer. Pflanzenphysiologie I, S. 440, 1897.
7. Wildiers. Nouvelle substance indispensable au développement de la levure. La cellule, Tome XVIII, S. 313, 1901.
8. Fernbach. Die Entwicklung der Hefe in einem mineralischen Medium. Annales de la Brasserie et de la Distillerie, S. 510, 1901.
9. Krieger. Bericht über die Mitteilungen von Wildiers Betrachtungen. Amerikanischer Bierbrauer, S. 712, 1901.
10. Windisch. Kritische Bemerkungen zu der Abhandlung von Wildiers „Bios", eine neue, zur Entwicklung der Hefe unumgänglich notwendige Substanz. Wochenschrift für Brauerei, Bd. XIX, S. 2, 1902.
11. Amand. Das Bios spielt nicht die Rolle eines Gegengiftes. La Cellule, Bd. XX, S. 225, 1902.
12. Henry. Über das Bios. Annales de la Brasserie et de la Distillerie, S. 129, 1902.
13. Windisch. Über „Das Bios von Wildiers spielt nicht die Rolle eines Gegengiftes". Wochenschrift für Brauerei, Bd. XIX, S. 527, 1902.
14. Kossowicz. Untersuchungen über das Verhalten der Hefen in mineralischen Nährlösungen. Ref. Kochs Jahresbericht, Bd. XIV, S. 211, 1903.
15. Amand. Das Verschwinden des Bios von Wildiers in den Hefekulturen. La Cellule, Bd. XXI, S. 329, 1904.
16. Lindner. Die Assimilierbarkeit der Selbsverdauungsprodukte der Bierhefe durch verschiedene Heferassen und Pilze. Wochenschrift für Brauerei, Bd. XXII, S. 528, 1905.
17. Chrzaszcz. Zur Kenntnis des Hefenwachstums in mineralischer Nährlösung. Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. XIII, S. 144, 1904.
18. Pringsheim. Über die sogenannte Biosfrage und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Nährsalzlösungen. Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. XVI, II. Abt.. S. 111, 1906.
19. Ide. Über Wildiers Bios. Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt., Bd. XVIII, S. 193, 1907.
20. Lindner. Kochs Jahresbericht, 18. Jahrgang, S. 52, 1907 (Ref. Endomyces fibuliger)
21. Pringsheim. Über die Stickstoffernährung der Hefe. Biochemische Zeitschrift, III. Bd., S. 121, 1907.
22. Rubner. Die Ernährungsphysiologie der Hefenzelle bei alkoholischer Gärung. Archiv für Physiologie, Supplement-Band 1912.
23. Moufang. Über die katalytische Wirkung toter Hefenzellen auf die Gärung. Ref. Kochs Jahresbericht, Bd. XXX, S. 113, 1913.

24. Pringsheim. Zur Theorie der alkoholischen Gärung. Biologisches Zentralblatt, Bd. XXXIII, Nr. 8, 1913.
25. Euler u. Lindner. Chemie der Hefe. Akademische Verlagsgesellschaft Leipzig 1915.
26. Bokorny. Die Stickstoffquellen der Hefe. Chemikerzeitung, Bd. 40, S. 366, 1916.
27. Lindet. Le déchet de la fermentation alcoolique. Comptes rendus de l'academie, 164, S. 58—61, 1917.
28. Bokorny. Notizen über Hefevermehrung. Tageszeitung für Brauerei, Nr. 33, S. 269, 1917.

Die Fettbildung in Hefen auf festen Nährböden

von

P. Lindner und **T. Unger**

Mitteilungen aus dem biologischen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe

Nachdem im Jahre 1911 in einem vorläufigen Bericht (Jahrbuch der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei, Berlin, Band 14, Seite 555) dargetan ist, daß bei Assimilationsversuchen mit Alkohol in mineralischer Nährlösung die Hefen sowohl Zellhaut, Zellsubstanz als auch Fettkügelchen aus dem Alkohol aufzubauen imstande sind, haben wir im Sommer 1917 die direkte Einwirkung von Alkoholdämpfen auf verschiedene Brauerei- und Brennereihefen untersucht und dabei eine überraschend schnelle Fettbildung beobachtet. Die Einwirkung vollzog sich ohne Mithilfe einer Nährlösung, indem die Betriebshefen in dünner Schicht auf Glasplatten aufgestrichen den Dämpfen ausgesetzt wurden. Dies auffallende Ergebnis machte es wahrscheinlich, daß auch die auf den bekannten Impfstrich- oder Oberflächenkulturen bezw. Riesenkolonien von Hefen längst beobachtete üppige Fettbildung der Zellen an der Luftgrenze dem aus der Tiefe der Kultur emporsteigenden Alkohol seine hauptsächlichste Entstehung verdankt. Es lag nun nahe, durch mikroskopische Untersuchung der Oberflächenschichten in den zahlreichen Würze-Agarkulturen unserer Sammlung, die in einem Kühlschrank mit 6—8 Grad C. aufbewahrt wird, die verschiedenen Gruppen von Hefen auf ihre mehr oder weniger ausgeprägte Fähigkeit zur Fettbildung vergleichend zu untersuchen. Da die einzelnen Kulturen ein ungleiches Alter seit der letzten Überimpfung besaßen, mußte auch ein Vermerk über das Alter gemacht werden. Die nachstehende Tabelle gibt das Alter in Monaten an und den Fettgehalt in Abstufungen, die durch

Untergärige Brauereihefen.

××× starke Fettbildung, ×× stärkere Körnelung, × schwache Körnelung, — fettlos, * mit Sporen.

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation [1])
2	Viktoriabrauerei	9	×××	?
6	Saaz	10	××	?
19	Frohberg	3	××	1
20	Jörgensen	11	×××	1
112	Jeschek	11	×××	1
175	Carlsberg 1	9	×××	—
220	Bötzow	11	×××	1
375	Lützschena 3	9	×	?
389	Gräfenthal	9	×	1—2
418	Leistbräu	9	××	1
419	Spatenbräu	12	×××	1—2
502	Böhmisch Brauhaus	3	××	1
547	Eisenach	13	×××	1—2
616	Pietsch-Weißenfels	9	×××	?
630	Schönfeld z. a. 19	14	×××	1
632	„ z. a. 32	11	×××	1
649	Schöneberg 1900	9	×××	1
650	Rheinische Aktien-Br. Mainz	6	×××	1
676	Sternagel, Breslau	9	××	1
722	Lehmann, Schöneberg	9	×	1—2
740	„ „	9	×××	1—2
747	Dortmund	9	×	1
751	Capbierhefe	11	×	?
775	Schifferer, Kiel	9	×××	1
776	Lehmann, Schöneberg	10	×××	?
791	„S“ Schönfeld	13	×××	1
796	S. thermantitonum	6	×	1
797	Rasse „K“ Schönfeld	11	××	1
805	„ „H“ „	10	××	2
837	Dortmunder Union	9	××	1—2
925	S. bruxellensis aus Lambic	16	×××	1

[1]) Aus Lindner und Cziser, Wochenschr. f. Brauerei 1912, Nr. 1 und aus neueren Versuchen, die eben erst abgeschlossen. Um die neueren Zahlen hervorzuheben, sind sie in Fettdruck wiedergegeben.

Obergärige Brauereihefen

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
30	Jörgensen	9	××	2
145	Koch	16	×××	1
150	Zeitz	28	×	?
159	Konitz	10	××	?
163	Frohberg	14	×××	1
169	Krause, Königsberg	9	×	1
182	Baartz, Holland	9	××	2
183	Hansen, cerevisiae I	43	×××	1
283	Bau, Holland	9	×	1
301	Grätz	7	×××	1—2
330	Linden, Broyhanhefe	7	×	2
376	Jena	9	×××	1—2
405	Liegnitz	13	×××	1—2
415	Döhlen	21	×××	1—2
457	Döhlen, Potschappel	9	××	—
539	Porter	10	×	1
540	„	13	××	1
678	Broyhan, Weißbier	9	×	?
686	Danziger Jopenbier	9	××	1
752	Weißbierhefe Rommel	10	×××	1—2
764	England	9	××	2
795	Rasse „a" niedrig vergärend	9	××	?
806	Rasse „b" hoch vergärend	13	××	1
835	Rasse „R" Dessau	11	×	1—2
1103	Wernesgrün, Schönfeld	4	××	?

Wilde Hefen

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
40	Königshain	13	××	1—2
44	Stockholm	39	×××	1—2
45	Solingen	13	××	2
51	Sacch. cratericus	9	×	1—2
52	Japan	15	××	2—3
53	Rostock	14	××	1
91	Gärkeller, Rostock	25	×××	1
115	S. Pastorianus I	17	××	?
116	„ „ II	9	×	1
117	„ „ III	27	×××	1
118	Ellipsoideus I	9	××	2
119	„ II	7	×	1—2
122	Teufelsbrück	8	×××	1
235	Frankfurter Bier	8	×	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
236	Frankfurter Bier	10	××	1—2
238	„ „	13	××	1—2
243	Bundesbräu	13	××	1
292	V. L. B.	9	—	1—2
368	V. L. B. Lagerfaß	9	××	1—2
604	Hannover	10	× *	3
698	von Himbeeren	9	—	?
702	von Johannisbeeren	13	—	3
784	S. cratericus	4	××	1
808	„ turbidans, Unterg.	13	××	1
809	„ „ Oberg.	10	××	1
924	Mycoderma lambic	39	—	2
	Kahmhefen			
66	Gensen	13	×	1—2
67	Franke	14	—	3
126	Willia belgica	2	—	3
127	Gallasch	13	—	1—2
177	Aus gärendem Eibischsaft	16	—	3
178	„ „ „	13	×	1—2
197	Fruchtätherhefe	11	—	2
269	Ficus	16	—	3
360	Aus amerikanischem Bier	27	×	3
398	Endoblastoderma amycoides 3	32	—	2—3
402	Endoblastoderma pulverulentum	3	×	3
434	von Grünmalz	3	×	3
480	„ Mazun	9	—	3
583	„ Bierflasche	3	—	3
688	„ Gurke	16	—	?
693	Rasse V	30	×	3
721	Stade	13	×	2—3
761	Rasse A	13	—	3
762	„ B	8	—	3
783	von Preßhefe	33	—	3
790	Stockholm	13	×	2
923	Mycoderma vanlaeriana aus Lambic	9	—	3
950	Aus schwedischer Sulfitlauge	18	—	3
956	Mycoderma arborescens	13	×	2
1040	von Bierfilz	33	—	2
	Torulahefen			
380	Braunschweig	14	—	1
689	von Eichenschleimfluß	27	×××	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
750	Torula colliculosa	14	××	1
793	aus Weißbier	17	—	
1026	„ Kumys	25	—	3
1032a	„ Blüten von Salix polaris	13	×	2
1042	„ Bierfilz	8	×××	2
1043	„ Blumen (Wildbad)	10	××	?
621	Torula pulcherrima	8	××	1
1104	Torula von Kirschen (Königshain)	8	×××	2
	Rote Hefen			
72	aus Carlsbergbier	13	—	1—2
317	nicht vergärend	9	—	1
798	Endoblastoderma	10	—	2—3
851	Saccharomyces glutinis	11	—	2
1076	aus Birkensaft	11	×	?
	Brennereihefen			
128	Rasse II	15	××	?
129	Gronowo	15	×××	1—2
136	Massow	12	××	1—2
755	Rasse XII	9	××	?
800	„Original Pasteur“	9	—	1
802	Krupa	36	×××	1—2
	Preßhefen			
79	Wünschelburg	9	×××	1
85	Sinner II	13	×××	2—3
139	Rasse III Bendix	39	×××	?
430	Schwarzwälder Lufthefe	13	××	1
487	Dornkaat Rasse V	36	××	1
574	Rasse VI	24	×××	1—2
633	Stettin	17	××	2
637	Rasse VIII	9	—	1
707	Dänemark	28	××	1
724	Lüneburg	33	××	1
725	„	10	××	1—2
726	Rixdorf	9	×	1—2
	Weinhefen			
454	Winningen	8	×	3
455	Steinberg	13	××	?
463	Bari	15	××	?
466	Assmannshausen	13	×××	1
521	Bordeaux	13	××	1

Samm-lungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fett-gehalt	Alkohol-Assi-milation
523	Riesling	16	×××	1
527	Champagne	18	×××	1
531	Chambertin	24	××	1
799	Charente	13	××	1
807	Champagne	12	×	1
984	Ruster	15	××	1
1077	Tokayer	9	××	1—2
994	„	30	××	1—2
	Spezialhefen und besonders charakterisierte Hefen			
481	aus armenischem Mazun	15	××	1—2
495	„ „ „	30	××	2
571	Kwaß	24	××	2
601	aus Danziger Jopenbier	17	××*	1—2
603	„ „ „	8	××	2
847	Cidergärung	33	××*	3
76	Saccharomyces Bailii aus Jopenbier	33	×	?
99	„ apiculatus	3	—	?
125	„ farinosus (Danzig)	9	×	3
125a	„ farinosus Saito (Japan)	9	—	3
199	„ cartilaginosus aus Kefir	17	××	?
272	„ membranaefaciens	17	—	3
354	„ Delbrücki	42	×	?
409	„ Marxianus	9	—	2—3
429	„ Logos	7	×××	1
431	„ exiguus	8	—	1
852	„ capsularis	2	—	1
919	„ Coreanus forma major	33	×××	2
920	„ Coreanus forma minor	28	×	2
989	„ turbidans	13	×××	1—2
990	„ validus	9	×	1—2
991	„ Stamm 93	9	××	1—2
1052	„ aus Kefir	3	—	?
173	Schizosacch. Pombe	3	—	1
577	„ mellacei	9	×	3
408	„ octosporus	9	×*	?
737	Zygosacch. von Kakao	9	××	?
845	„ Barkeri	13	—	?
850	„ Prior	11	×	?
921	„ fusoriens	9	×	?
394	Milchzuckerhefe Kiel	9	×	1
954	Milchhefe a Heintz	17	×××	1

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fettgehalt	Alkohol-Assimilation
955	Milchhefe b Heintz	15	×	?
975	Yoghurthefe „	9	—	2
648	Mycelhefe	13	—	?
1088	„ Eisschrank	6	—	1
1089	„ Lärchenholz	6	×	?
765	H_2S-Hefe	9	×	1
949	Hefe aus schwedischer Sulfitlauge	9	×	2
781	Pinophtorus enervans (van Hest)	15	—	1—2
788	Amylohefe	9	—	3
843	Schwannyomyces occident.	17	×	1
829	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski) — Padina povina	8	×	2
930	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski) — Halyseris	8	×××	2
831	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski) — Fischdarm	8	×××	2
832	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski) — Alge	8	××	2
853	Hefen aus der Bucht von Neapel (Knischewski) — Hardanger	15	×××	1—2
849	Wills Torulahefen — I	14	—	1—2
849	Wills Torulahefen — II	8	—	3
849	Wills Torulahefen — III	13	×	1
849	Wills Torulahefen — IV	8	×	3
849	Wills Torulahefen — VII	17	—	1—2
849	Wills Torulahefen — X	22	—	1
849	Wills Torulahefen — XV	17	—	1
854	Lufthefe	17	×××	2
855	Membranhefe	3	××	1—2
957	aus Aconitum Lycoctocum	32	×	1
971	Blumenhefe von Wochainer See	8	×	2
972	Baumflußhefe	14	× *	1—2
973	„	9	—	2
976	Hefe aus Thale	13	— *	2
983	Guillermondia fulvescens	18	××	?
993	Roses Hefe „E“	8	××	?
992	„ „ „F“	15	××	?
985	Javahefe I	8	××	?
986	„ II	8	×	1—2
987	„ Weißbier	8	×	3
1045	Teehefe, Frosch	8	×	1
1046	„ , Lindau	8	×	1
1047	Chichahefe	17	×	1
1049	Hefe aus Bierfilz	17	—	1—2
1054	Bassiahefe, Indien	8	×	2
1055	Hefe aus Zuckerrohr	8	××	1—2

Sammlungs-Nr.	Name	Alter in Monaten	Fett-gehalt	Alkohol-Assimilation
1064	Hefe aus Malzbrot, Kairo	11	—	3
1065	Schwabenhefe	17	×	2
1062	Anamhefe	9	×	1—2
1066	Hefe aus Görlitzer Brauerei a	8	—	?
1067	„ „ „ „ b	13	—	1—2
1068	„ „ „ „ c	9	—	2
1069	„ „ „ „ d	11	××	1
1070	Busahefe a	16	×××	1
1071	„ b	14	×××	1—2
1075	Linariahefe	8	×	?
1077	Weißbierhefe, Naumburg	8	××	1
1078	„ „ (Spitzhefe)	8	—	
1079	Tropfwasserhefe	8	×××	2
1090	Schimmelhefe aus Wasseranalyse	23	—	3
1091	Hefe aus kondensierter Milch (Heymann)	17	—	3
1092	Tebbenhoff III	4	×	1
1093	Hefe aus gärendem Hefe-Extrakt	9	×	?
273	Saccharomyces Ludwigii	6	×*	2
1034	Hefe aus verschleimter Milch „Tätte"	9	××	1
685	Hefe von Korinten	9	××	2

Kreuze oder ein Minuszeichen ausgedrückt werden. Als Gesamtergebnis ist festzustellen, daß die untergärigen Brauereihefen am kräftigsten Fett gebildet haben. Bei obergärigen Brauereihefen, bei Brennerei- und Preßhefen und Weinhefen überwiegt in der Mehrzahl der Kulturen starkkörniger Inhalt statt der großen Fetttropfen. Bei den wilden Hefen treten schon schwach gekörnte Zellen häufiger auf und bei den Kahmhefen und roten Hefen sind oft nur winzige bezw. keine Fetttröpfchen zu sehen. Bei den Torulahefen dagegen finden wir die beiden Gegensätze ziemlich gleichmäßig vertreten. In der Gruppe der besonders charakterisierten Hefen zeigen sich alle möglichen Übergänge.

Wenn man auf Grund mehrfacher Beobachtung den Satz, daß eine fette Hefe wenig zum Keimen geneigt ist, gelten lassen will, so kann man verstehen, weshalb gerade die untergärigen Brauereihefen in Wildierscher Lösung eine frühzeitige Unterbrechung im Wachstum erfahren, wohingegen die Kahmhefen oder roten Hefen oder wilden Hefen noch mit dem Sprossen fortfahren. Wir haben dann aber auch eine Erklärung für die Erfahrungstatsache, daß bei Überimpfungen einer älteren Kultur

auf frischen Nährboden der Erfolg sicherer ist, wenn wir statt aus der Mitte der Kultur mit ihren alten verfetteten Zellen die Randpartien benutzen, in denen noch die sog. Eiweißgeneration vorherrschend ist.

Es wäre ja zweckmäßig gewesen, wenn wir unsere Kulturensammlung gleichzeitig auf frischen Nährboden übergeimpft und dann schrittweise das Entstehen der Fettkugeln bezw. Körnelungen verfolgt hätten. Es war dies aber in der Kriegszeit nicht möglich.

Aus dem Umstand, daß selbst in 40 Monate alten Kulturen die Zellen häufig noch voller Fett saßen, darf man wohl schließen, daß dieses wohl kaum als Reservestoff mehr Bedeutung hat. Es dürfte dies nur gelten für die noch feinkörnigen Ausscheidungen im Plasma, die man in jungen Sproßzellen in frischer Nährlösung bei reichlichem Luftzutritt regelmäßig beobachtet. Es gilt auch für die Fettbildung, was Wehmer bezüglich der Säurebildung oder Boas bez. der Ammoniakabscheidung durch Schimmelpilze festgestellt hat, daß der Organismus seine Lebensprozesse durchaus nicht immer so regelt, daß Schaden hierbei für sein Gedeihen ausgeschlossen bleibt. So gehen z. B. auf Harnstoffnährböden viele Pilze in kurzer Zeit durch zu viel entbundenes Ammoniak zugrunde, weil sie das Harnstoff spaltende Enzym zu ausgiebig entwickeln, ähnlich wie gewisse Pilze durch Oxalsäure oder die Milchsäurebakterien der Milch durch Milchsäure schließlich zum Absterben gebracht werden.

Es erschien uns zweckmäßig, in den nachfolgenden Tabellen auch die Alkohol-Assimilationsbefunde aus der Arbeit von Lindner und Cziser 1912 zum Vergleich mit den Befunden über die Fettbildung anzufügen. Dabei stoßen wir auf bemerkenswerte Gegensätze. Damals war als Gesamtergebnis festgestellt worden, daß gerade die Kulturhefen am wenigsten befähigt waren, den Alkohol zu assimilieren, und jetzt haben wir festgestellt, daß gerade sie ihn am meisten assimilieren und zur Fettbildung benutzen. Welche Erklärung müssen wir hierfür suchen? Es ist jedenfalls in den mineralischen Nährlösungen, denen nach der Sterilisation der Alkohol in konzentrierter Form hinzugefügt wurde, ein so kräftiger Wirbel beim Vermischen entstanden, daß sämtliche Luft, die etwa gelöst war, ausgetrieben worden sein dürfte. Für alle Hefen aber, welche sich nicht in Häuten an der Luft entwickeln, sondern sich am Boden festsetzen, ist der Mangel an Sauerstoff offenbar die Ursache gewesen, daß es da nicht zu einer bemerkenswerten Assimilation bezw. Fettbildung gekommen ist. Obwohl nun zwar gelegentlich bei den früheren Versuchen mit Alkoholdämpfen die Bildung von Fetttröpfchen bemerkt wurde, ist damals doch noch nicht dieser Erscheinung eine genügende

Beachtung geschenkt, auch sind die Kulturen nicht lange genug beobachtet worden. Es wird Aufgabe späterer Versuche sein, diese Lücke noch auszufüllen, namentlich auch bei den Kahmhefen, die bei den früheren Assimilationsversuchen mit Alkohol kräftige Ernten gaben, auf etwaige Fettbildung zu achten. In den Kulturen auf festen Nährböden lassen sie ja zumeist Fettbildung vermissen. Hierbei wird nun allerdings der Umstand zu berücksichtigen sein, daß die meisten Kahmhefen die Maltose und auch vielleicht die Dextrose des Würzeagars gar nicht vergären und somit keinen Alkohol zur Fettbildung zur Verfügung gestellt bekommen. Van Laer berichtet 1901 (J. of the federated Inst. of Brewing, Bd. 7), daß Mycodermazellen, in denen weder Invertase noch Maltase nachweisbar waren, Saccharose und Maltose direkt zu Wasser und Kohlensäure oxydierten. Nach Meißner oxydieren sie die Zucker, bilden aber aus ihnen Zellsubstanz und daneben auch noch Säure. Allan P. Swan hat (Centralbl. f. Bakteriologie 2. Abt., II. Bd., Nr. 1, 1896) eine rote Hefe untersucht, die auf Würzegelatine in 10 bis 14 Tagen bei 5—10° C massenhafte Fetttropfen bildete, die er aber fälschlicherweise als Sporen angesehen hat. (Die Bilder, die er von den vermeintlichen Sporen führenden Zellen gebracht hat, lassen den Irrtum ohne weiteres erkennen.) Da diese Hefe keinen Alkohol bildet, muß die Fettbildung aus dem Zucker erfolgen ebenso wie bei dem Endomyces vernalis. Swan macht die interessante Angabe, daß im Dunklen die Sporenbildung bei 12° C frühestens in 20 Tagen einsetzt, während bei Licht dies schon nach 7 Tagen der Fall ist. Luft und Licht gaben die schnellsten Resultate. Wurde das Kulturglas statt mit Watte mit einem Gummistopfen verschlossen, dann verzögerte sich die Sporenbildung (oder richtiger die Fettbildung) erheblich.

Beiläufig sei bemerkt, daß in den nachstehenden Tabellen ein Überblick über den gegenwärtigen Bestand unserer Sammlung an Hefereinkulturen gegeben wird. Leider sind eine Anzahl Kulturen, die wir noch in den früheren Untersuchungen über die Assimilation gegenüber den Zuckerarten und den Eiweißabbauprodukten benützt haben, eingegangen, so daß für den Bezug von Kulturen jene Tabellen nicht mehr maßgebend sind. Andere Stämme, die neu hinzugekommen, konnten andererseits noch nicht auf Alkoholassimilation untersucht werden. Der Zahl nach sind rund 250 Hefenstämme auf Fettbildung und auf Assimilation des Alkohols geprüft.

Nachträglich wurde noch ein Vergleich angestellt mit den Ergebnissen einer Arbeit, die Stockhausen in unserem Laboratorium vor Jahren über das Verhalten der Hefen in Ammonsulfat-Traubenzuckerlösungen

angestellt hat. Es war nämlich denkbar, daß die Alkoholassimilation bei Ammonsulfat als N-Quelle ausbleibt, weil die betreffende Hefe das Ammonsulfat nicht verarbeiten kann. Wenn nun z. B. die Weinhefe Bari bezüglich der Alkoholassimilation mit ? gekennzeichnet ist, in der Ammonsulfatzuckerlösung aber mit 3 gewachsen ist, dann liegt die geringe Alkoholassimilation nicht an dem Ammonsulfat, sondern an dem Alkohol bezw. an dem Fehlen von genügend Sauerstoff. Die Kahmhefe 269 wuchs in der Zuckerlösung nur mit 1, in der Alkohollösung mit 3. Dies deutet auf leichtere Verarbeitung des Alkohols, als des Zuckers. Der negative Befund bezüglich der Fettbildung deutet an, daß der Alkohol mehr zum Aufbau der Zellwand oder des Plasmas verwendet wurde.

Die leichte Umwandlung von Alkohol in Fett ist aber doch die Regel bei der Mehrzahl der Hefen, wenn für ausreichenden Luftzutritt gesorgt ist.

Im Beiheft zum Bot. Zentralblatt 1. Abt. 1918 sagt Bokorny: „Die Hefe ist kein für die Fettbildung recht günstiger Pilz“. Nur bei krankhafter Veränderung könne es zu größerer Fettanhäufung kommen. Man sieht, wie leicht man auf gänzlich abwegige Schlüsse in der Ernährungsphysiologie kommen kann. Gerade das Gegenteil von dem was Bokorny sagt, ist richtig. Die Bierhefe ist für die Fettbildung einer der geeignetsten Pilze. Der Umstand, daß gerade die in größerer Menge zur Verfügung stehende Bierhefe leicht fettreich gemacht werden kann, dürfte noch einmal technisch und volkswirtschaftlich ausgewertet werden. Solche Hefe als Nährhefe würde uns wie die Milch Eiweiß und Fett gleichzeitig liefern.

Zur Verflüchtigung des Biosbegriffs

von

Prof. Dr. **Paul Lindner**

Mit einer Tafel und 4 Textabbildungen

Die Erfahrungen mit dem Fettpilz Endomyces vernalis Ludwig haben mir gezeigt, daß mit zunehmender Verfettung der Zellen dieselben schließlich ihr Wachstum einstellen und es auch in frischer Nährlösung nicht mehr aufnehmen. Auch bei Kulturhefen, die längere Zeit auf Würzegelatine oder Würzeagar gezüchtet waren, habe ich oft genug ein Ausbleiben der Keimung beobachtet, wenn Einzellkulturen zu Übungszwecken hergestellt wurden, bin jedoch zunächst auf die Verfettung der Zellen als Ursache der Erscheinung nicht verfallen. Erst als ich die überaus kräftige Fettbildung bei Kulturhefen in reinen Zuckerlösungen oder in Gegenwart von Alkohol und Luft durch Versuche festgestellt hatte — in der 2. Hälfte des Jahres 1917 — stieg mir sogleich der Gedanke auf, daß auch bei der Biosfrage die Verfettung der Zellen eine Rolle spielen dürfte, und ich wurde darin bestärkt, als ich sowohl bei Kossowicz als auch bei Chrząszcz von verfetteten Zellen, die sich in der Wildierschen Lösung[1]) bei geringer Zellenaussaat entwickelt hatten, las. Ersterer berichtet: „interessant war auch das Vorkommen großer Fettkörner in der Vakuole“ (er hatte mit Saccharomyces ellipsoideus gearbeitet), letzterer: „das Plasma ist in den meisten Zellen (Riesenzellen) sehr stark granuliert, man sieht oft auch große Öltropfen“. (bezieht sich auf die Rasse II, eine Brennereihefe).

In der vorhergehenden Arbeit findet sich die Angabe von Hans Naumann, daß in Laurentscher mineralischer Nährlösung ausgesäte einzelne Zellen von Bierhefe nach 14 Tagen in den Tröpfchenkulturen auf Grund der starken Lichtbrechung als abgestorben angesprochen werden mußten.

In einer vorläufigen Mitteilung „Eine einfache Lösung der Biosfrage“ in Woch. f. Brauerei 49, 1918, habe ich bereits die Verfettung der Aussaatzellen bei reichlich Sauerstoffgegenwart als Grund aus-

[1]) Wasser 200 g, Rohrzucker 20 g, $MgSO_4$ 0,5 g, $CaCl_2$ 0,5 g, NH_4Cl 0,5 g, $(NH_4)_2HPO_4$ 0,5, $CaCO_3$ 0,1 g.

bleibender Vermehrung angesprochen. An dieser Stelle will ich nun auch durch Bilder eine Erläuterung dazu bringen.

Abbildung 1 zeigt uns eine untergärige Bierhefe (502 der Sammlung), die auf Würzeagar vom 8. 11. 17—2. 12. 18 gewachsen und im Kühlschrank bei etwa 8° C gehalten worden war. Der Reichtum an Öltropfen ist auffallend und kann auf etwa 50% der Trockensubstanz eingeschätzt werden. Die Probe war von der Oberfläche der Mitte der Kultur, also von dem ältesten Teil derselben entnommen worden. Vergrößerung 1000fach. Die Fettbildung in solchen Kulturen ist in der Hauptsache auf die aus der Tiefe aufsteigenden Alkoholdämpfe zurückzuführen. Erst an der Oberfläche werden letztere unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs von den Zellen assimiliert und zu Fett umgewandelt. Auf das Vorkommen von Fetttröpfchen bei der Assimilation des Alkohols als alleiniger Kohlenstoffquelle ist von mir schon 1911 im Jahrbuch der V. L. B. S. 555 hingewiesen worden. Siehe auch die vorstehende Mitteilung von Lindner und T. Unger.

Abb. 2 stellt bei 1000facher Vergrößerung eine in Wildierscher Lösung in Adhäsionskultur vom 24.—27. 12. 18 aus der mit dem Pfeil bezeichneten Mutterzelle herangewachsene Kolonie der untergärigen Bierhefe U dar. Die Mutterzelle ist leider bei dem Einstellen des Bildes auf der Mattscheibe unmittelbar vor der Aufnahme geplatzt; sie besaß im Unterschied von ihren Nachkommen ein fettig glänzendes Plasma, das nach dem Einströmen der Flüssigkeit aber als solches nicht mehr im Bild in Erscheinung tritt. Die übrigen Zellen zeigen ein granuliertes Plasma. Über den Fettreichtum solcher granulierter Zellen gibt uns in Abb. 4 eine andere Kolonie aus derselben Adhäsionskultur Aufschluß, bei der durch Salzsäuredämpfe und gelindes Erhitzen ein Zusammenfließen benachbarter Öltröpfchen veranlaßt worden war. (Ein Tropfen verdünnter Salzsäure war in die Höhlung des Objektträgers gegeben und dann letzterer über der Sparflamme eines Bunsenbrenners erhitzt worden.) In den Adhäsionskulturen steht für die Fettbildung aus Zucker bezw. aus dem daraus hervorgegangenen Alkohol stets reichlich Sauerstoff zur Verfügung.

Dasselbe gilt auch für Tröpfchenkulturen. Wie stark auch in diesen die Verfettung Platz greifen kann, beweist Abb. 6 und 7 (ebenfalls 1000fach vergrößert), die beide denselben Sproßverband darstellen, nur daß bei Abb. 7 das Zusammenfließen der Öltropfen durch Abheben des Deckgläschen und Eintrocknen, sowie darauf erfolgtes Anhauchen bewirkt worden ist. In der durch den Pfeil angedeuteten Riesenzelle, die wahr-

scheinlich die Mutterzelle war, ist ein sehr kräftiger Öltropfen zustande gekommen.

Aber auch in dickeren Flüssigkeitsschichten kann bei genügend langer Sauerstoffeinwirkung die Verfettung sich bemerklich machen, selbst dann, wenn die Aussat nicht allzuspärlich gegeben war. Abb. 3 und 5 stellen die in Wildierlösung entwickelten Zellen einer Bierhefe dar: die stark verfetteten Zellen der ersteren waren in einer nur 2 cm hohen Schicht angegangen in einem Fläschchen, das nur mit einem Wattepfropf verschlossen war und vom 3.—12. 12. 18 bei etwa 20° C gestanden hatte. In Abb. 5 ist ein öliges Aussehen des Plasmas nicht zu bemerken. In der betreffenden Flasche war die Flüssigkeit bis zum festschließenden Kork angefüllt, die Luft also abgesperrt. Die Mehrzahl

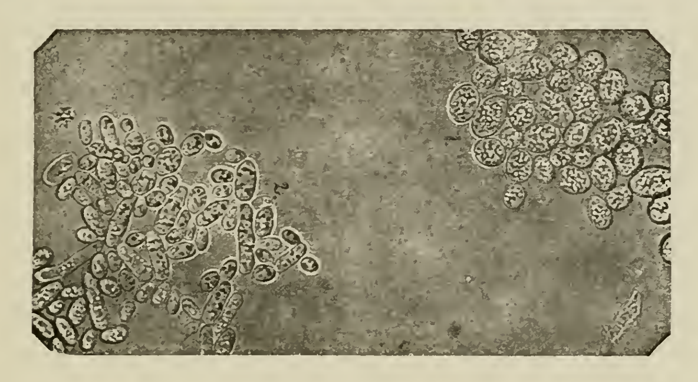


Abb. 8.
Adhäsionskultur von 6tägigem Bottichbier.
1. Kultur-, 2. wilde Hefe (S. Pastorianus-Art). 600fach vergr.

der Zellen ist durchaus gesund und keimungsfähig. Obwohl in dem ersteren Fläschchen mit der geringeren Flüssigkeitsmenge die gleiche Aussaat (eine Platinöse verdünnter Hefe) gegeben war, die Zellen somit dichter lagerten, ist es doch noch zu einer erheblichen Fettbildung gekommen. Ein ähnliches Bild wie Abb. 5 gaben die Sproßverbände derselben Hefe, die in einem Vaselineinschlußpräparat in Wildierlösung gewachsen waren. Selbst in Würze im Vaselineinschlußpräparat gehaltene Zellen derselben Hefe wiesen am 10. 12., also nach 7 Tagen nur selten winzige Granulationen auf. Der Grund dafür ist in dem Mangel an Sauerstoff und in dem Verbleiben der entstandenen Kohlensäure unter dem Deckgläschen, das außen durch Vaseline abgedichtet war, anzunehmen.

In Abb. 8[1]) und 9[2]) bringe ich noch zwei ältere Bilder, die uns gleichzeitig die verschiedenen Fähigkeiten von Kultur-, Kahm- und wilder Hefe zur Fettbildung beweisen sollen.

Abb. 8 zeigt eine untergärige Kulturhefe (1) und eine Pastorianushefe (2), die in einer Adhäsionskultur von einem 6tägigen Bottichbier zu Kolonien herangewachsen sind. Unter dem Einfluß des reichlich zu Gebote stehenden Sauerstoffes haben beide sich noch ziemlich kräftig in der schon weit vergorenen Würze entwickelt. Da der in dieser

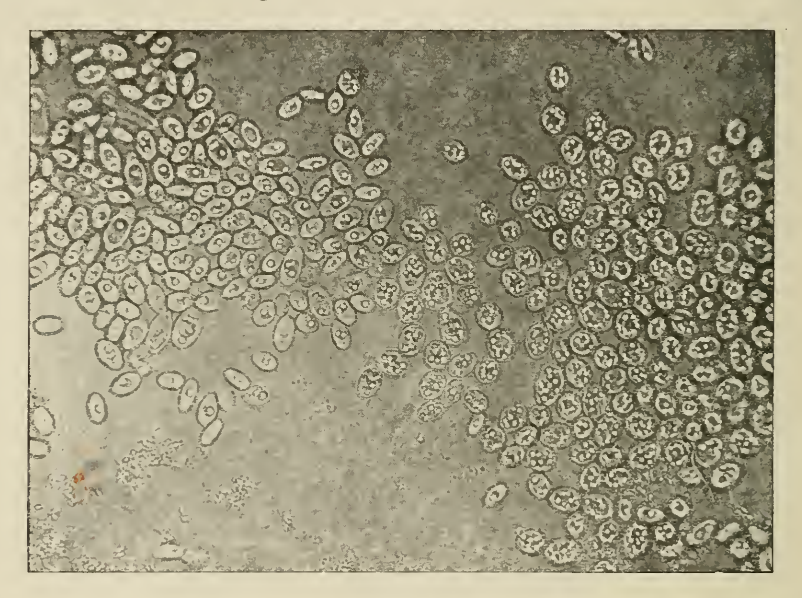


Abb. 9.
Kahmhefe und obergärige Kulturhefe aus einer amerikanischen Preßhefe Adhäsionskultur 600fach.

bereits vorhandene Alkohol aus dem Präparat nicht entweichen konnte, wurde er namentlich von der Kulturhefe absorbiert und zu Fett umgewandelt, das in Form gleichmäßiger Tröpfchen fast allein den Zellinhalt ausmacht. Auf die Trockensubstanz der Zellen bezogen, schätze ich den Fettgehalt auf 40 % ein. Die Pastorianushefe zeigt in starkem Gegensatz zur Kulturhefe nur wenig Fettkörnchen. Abb. 9 zeigt uns den Gegensatz von obergäriger Kulturhefe und einer als Kahmhefe

[1]) Entnommen aus Lindner, Atlas der mikroskopischen Grundlage der Gärungskunde. 2. Aufl. 1910. Berlin, Paul Parey.

[2]) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle. 4. Aufl., 1905. Paul Parey.

anzusprechenden Art. Für letztere ist bemerkenswert, daß die wenigen kleinen Ölkügelchen meist in der Vakuole liegen; die Kulturhefe (amerikanische Preßhefe) verhält sich ähnlich wie die untergärige in Abb. 8. Die Fettbildung in den Adhäsionskulturen machte sich erst in späteren Tagen bemerklich.

Eine andere Art des Auftretens von Fett nämlich in Form großer Ölkugeln zeigt endlich in Abb. 10 meine Torula pulcherrima[1]). Für diese Art ist die Anwesenheit eines größeren Öltropfens, der stets die Mitte der Zelle einnimmt, kein Hinderungsgrund für das Auskeimen, bei dem lediglich das homogene Plasma in Tätigkeit tritt, während der Öltropfen unbenutzt in der Mutterzelle verbleibt. Diesen Fall hebe ich

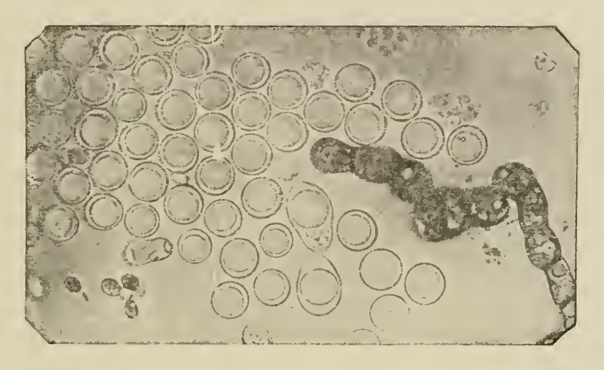


Abb. 10.
Torula pulcherrima (mit großen Fetttropfen) und Fadenstück von Dematium pullulans. 600fach.

hervor, um zu betonen, daß nicht die Fettmenge als solche, sondern wohl mehr die Art ihrer Verteilung im Plasma maßgebend ist für das Ausbleiben der Keimung neben dem Einfluß des Sauerstoffs.

Auf meine Veranlassung hat Frl. Toni Unger von der stark verfetteten Bierhefe 502 (Abb. 1) Aussaaten in Wildiersche Lösung und Würze gemacht und zwar in Tröpfchenkulturen und Vaselineinschlußpräparaten. In der Tröpfchenkultur, also bei reichlichem Luftzutritt, war in beiden Lösungen nach 48 Stunden nur ganz vereinzeltes Aussprossen zu bemerken, in den Vaselineinschlußpräparaten jedoch ein allgemeineres und kräftigeres, besonders in Würze. Von 17 Tröpfchen der Wildierlösung mit etwa je 35 Zellen waren 10 Tröpfchen, von den Würzetröpfchen waren 15 mit etwa je 50 Zellen gänzlich unverändert

[1]) Siehe Note 1 S. 82.

geblieben. Man ersieht aus diesen Zahlen, wie die Verfettung in Verbindung mit viel Luft die Keimung hindert. Ein gleichzeitiger Versuch, mit der bekannten Original-Frohberghefe (Nr. 19) war mit geringerer Aussaat angesetzt, zumal die Kultur erst 4 Monate alt war. Befund nach 24 Stunden: in der Wildierlösung noch kein Wachstum; in Würzetröpfchen jedoch schon kräftige Sprossung mit etwa 3facher Vermehrung; im Vaselineinschlußpräparat in Würze etwa 5fache Vermehrung; dazwischen jedoch die stark fettigen Zellen noch unverändert.

Nach 48 Stunden: in den Wildiertröpfchen die meisten Zellen noch ungesproßt, der Rest bildete Sproßbäume bis zu 7; im Wildiereinschlußpräparat solche bis zu 10 Zellen. In den Würzetröpfchen zeigten die jungen Sproßzellen bereits Granulation, im Würzeeinschlußpräparat nur wenig Granula. Zellen hier auffallend lang und spitz, an Dematium pullulans erinnernd.

Nach 72 Stunden: Im Wildiertröpfchen kleine Sproßbäume mit schon kräftig granulierten Zellen, im Gegensatz zu den schwach granulierten Sprossungen des Wildiereinschlußpräparates. Im Würzetröpfchen starke Granulation, im Würzeeinschlußpräparat wenig Veränderung.

Das Auftreten der Granula erweist sich also als ein deutlicher Hinweis auf das Vorhandensein von genügend Sauerstoff. Ob die Granula nun unmittelbar aus Zucker oder unmittelbar nach dessen Aufspaltung aus dem Alkohol entstehen, muß dahingestellt bleiben. Wir besitzen aber bereits Andeutungen, daß die Hefen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Maltose und Alkohol beide gleichzeitig assimilieren (Lindner und Cziser, Jahrbuch der V. L. B. 1911, S. 554) können. Die damals aufgenommenen noch nicht veröffentlichten Bilder von den Kulturen des S. farinosus in Minerallösung + Maltose bez. Maltose + Alkohol lassen unzweifelhaft erkennen, daß in der ersteren Lösung noch kaum eine halbwegs kräftige Entwicklung eingesetzt hatte, während in der zweiten schon eine kräftige Decke und ebensolcher Bodensatz gebildet war.

Bei reichlicher Durchlüftung einer gärenden Zuckerlösung kann also sehr wohl ein Teil des Alkohols nicht bloß zum Aufbau der Zellen, sondern auch zur Bildung von Fett verwertet werden und dies schon in einem so frühen Zeitpunkt, wo noch unzersetzter Zucker reichlich vorhanden ist.

Es fragt sich nun, ob nicht in der ungeheuer umfangreichen Gärungsliteratur das Auftreten der Granula bei reichlicher Lüftung schon verzeichnet ist. Eine schätzbare Fundstelle bietet in dieser Frage

die Veröffentlichung von Leopold Nathan und Willy Fuchs (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen, XXIX) „Über die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe".

Befunde der Versuchsreihe 5. Ruhige Gärung I ergab: „Sehr kräftige glänzende glykogenhaltige Zellen von großer Gleichmäßigkeit". Rühren und Lüften II: „Zellen von gleichmäßiger Größe, etwas gestreckt, sehr zusammenballend; das Plasma ist sehr stark granuliert und enthält viele kleine Körnchen". Lüftung ohne Rühren III: „Ebenfalls stark zusammenballend, die Zellen sind meist rundlich, weniger stark granuliert, als bei Versuch II". Rühren allein IV: Zellen sind sehr stark zusammengeballt, teilweise etwas gestreckt, wenig granuliert, nähern sich im Aussehen am meisten denen von I. Als Gesamtergebnis in bezug auf die Granulierung der Zellen ist ohne Zweifel diesen Befunden zu entnehmen, daß mit der größeren Luftzufuhr auch die Granulierung, d. h. Fettbildung kräftiger auftritt.

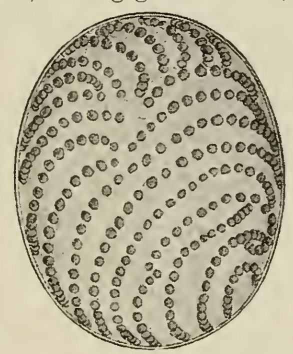


Abb. 11.
Fadenförmige Anordnung von glänzenden Körnchen in einer Hefenzelle. 5000fach. Nach Hieronymus.

Sofern das Fett durch Umwandlung des Alkohols zustande gekommen ist, muß natürlich auch die Gärungsgleichung Fehlbeträge an Alkohol aufweisen und es ist jetzt sehr begreiflich, daß E. Giltay und J. H. Aberson bei starker Lüftung nur 75% gegen die normalen 90% des vorhandenen Zuckers nach den Verhältnissen der alkoholischen Gärung gespalten auch stark nachweisen konnten, welches Verhältnis, wenn geschwächt, zwischen den erzeugten absoluten Alkoholmengen bestehen bleibt.

Am einfachsten würde uns die Sachlage klar werden, wenn wir die Gärung in einer Tröpfchenkultur verfolgen könnten. Anfänglich, so lange die Vermehrung anhält, dürfte alles ungefähr nach der alkoholischen Gleichung verlaufen; nach Wochen, wenn die Zellen voller Fetttröpfchen sind, wie in Abb. 8, würde man wohl nur noch wenig Alkohol nachweisen können.

Man wird sich nunmehr vorstellen müssen, daß die Zelle den Alkohol der umgebenden Flüssigkeit geradezu aufsaugt und ihn an der Oberfläche des Plasmas zu Fett kondensiert, vielleicht in den Chondriokonten, deren Verlauf durch die Fettkügelchenreihen angedeutet sein

dürfte. Zu solcher Annahme verleiten besonders die Abbildungen der Hefe von Hieronymus[1]), von denen eine hier angefügt sei. Abb. 11. Wie nichtgärende Pilze, z. B. Endomyces vernalis, den Zucker zu Fett verarbeiten, ist fraglich. Sie verhalten sich ähnlich wie die Blatt- und Schildläuse, die Zucker saugen und schließlich voller Fetttröpfchen sind.

Den Alkohol als Reservestoff anzusprechen, ist nicht angängig; eher schon das Fett; dessen Bedeutung liegt aber wohl mehr darin, daß es den Zucker bezw. Alkohol in eine osmotisch unwirksame Form überleitet, die immer neue Zucker- oder Alkoholmengen der Zelle zuströmen läßt. In ganz jungen Sproßzellen der Bierhefe sieht man regelmäßig solche Fettgranula, die aber wieder vom Plasma resorbiert werden können, ähnlich wie die transitorische Stärke in den höheren Pflanzen. Durch diese Fettgranula kommen in den Tröpfchenkulturen die für die Kulturhefe so charakteristischen groben Schatten zustande, im Gegensatz zu den helleren Schatten der Zellgruppen von wilden Hefen — ein Umstand, den ich für die biologische Analyse des Bottichbieres u. dgl. ausgewertet habe und durch den diese Kulturmethode ihre große Bedeutung in den Laboratorien der Gärungsbetriebe erlangt hat.

Die einzelnen Zellen einer Hefevegetation haben nicht die gleiche Veranlagung zur Fettspeicherung und die dafür geeigneten übernehmen sich dann geradezu darin, bis sie nicht mehr sproßfähig sind, opfern sich also in dem Kampf gegen den Zucker für die anderen. Meiner Auffassung nach sind Gärung und Fettbildung Abwehrmaßregeln der Hefe gegen die schädigende Wirkung eintrocknender Zuckersäfte auf den Oberflächen süßer Früchte u. dgl.

Das Vorkommen von gärenden und fettspeichernden Hefen, besonders von Torulaarten (T. pulcherrima u. a.) auf Obst oder in Nektarien (Anthomyces Reukaufii) spricht dafür. Die Kultur dieser letzteren Art ist wegen der leichten Verfettung geradezu mit Schwierigkeiten verknüpft. In dem Sporn des Löwenmauls würde sie an Verfettung zugrunde gehen, wenn nicht vereinzelte Zellen gleichsam als Eiweißgeneration den Fortbestand der Art beim Übertragen durch Insekten (Hummeln, in denen sie überwintern, wie Grüß gezeigt hat) auf die Frühjahrsblüten sicherten.

Wie in dem Nektar infolge des reichlichen Zuckers und der nur spärlichen Stickstoffnahrung die Hefe zum Verfetten neigt, so auch die

---

[1]) Ber. der deutsch. bot. Gesellsch. 1893 Heft 2.

Kulturhefe in der Wildierschen Lösung, deren Gehalt an Ammoniaksalzen wegen deren Schwerverdaulichkeit gleichkommt der Gegenwart einer nur spärlichen Menge leicht assimilierbaren Stickstoffs. Ehe nun hier die Plasmasynthese vorwärtskommt und ein Aussprossen fördert, hat das Chondriom der Zelle unentwegt an der Fettsynthese gearbeitet und einen größeren Vorrat davon geschaffen, der auf die Sproßtätigkeit lähmend wirkt.

In dem Fernhalten des Sauerstoffs besitzen wir — wie meine Versuche und die früheren von Nathan und Fuchs dargetan — ein einfaches Mittel, die Fettbildung zu verhindern und die Zellen gesund und sproßtüchig zu erhalten.

Die Annahme eines besonderen „Bios" ist nicht mehr nötig und die Versuche, dasselbe zu isolieren und nachzuweisen, erscheinen nunmehr aussichtslos.

Die Bioshypothese hat ihre Schuldigkeit getan, indem sie die Forscher jahrzehntelang in einer gewissen Spannung und Aufregung erhielt und zu interessanten Versuchen anregte, sie kann aber jetzt ad acta gelegt werden.

Kleine Mitteilungen

Ergänzende Nachträge aus der Literatur betreffend Bios, Hefewachstum in Minerallösungen, Alkoholassimilation u. dgl.

Von P. Lindner

Welche Gründe veranlaßten Pasteur (1857), als Stickstoffquelle bei Gärversuchen Ammoniaksalze zu verwenden? Es lag ihm daran, die Hefe bezw. das Milchsäureferment in einer ganz klaren Lösung auszusäen und die kleinen körnigen Beimengungen von irgendwelchen stickstoffhaltigen Bestandteilen und Kreide auszuschalten, damit man bei eintretender Gärung nicht mit dem Einwand kommen konnte, daß erstere ihre Zerfallsbewegungen auf den Zucker übertragen hätten, wie es der Liebigschen Anschauung der Gärung entsprach. Gerade das Vorhandensein vieler körnchenartiger Bestandteile in den vordem üblichen Nährlösungen hatte auch die ähnlich gestalteten Fermente, wie das Milchsäurebakterium übersehen oder als unwesentlich für die Umsetzungen ansehen lassen. Indem zu der klaren Lösung mit Zucker, Ammonsalz und phosphorsaurem Kali und Magnesia nur Spuren des Ferments gegeben wurden, konnte die Zerlegung des Zuckers eben nur auf die Vermehrung des Ferments und nicht auf

eine Kontaktwirkung im Sinne von Berzelius zurückgeführt werden. Die Gärung erschien nun eher als ein einfacher Ernährungsprozeß, bei dem der Zucker und die Ammonsalze die Bausteine für das Plasma des Gärungserregers liefern und dabei selbst zerlegt werden. Eine Kontaktsubstanz wirkt in anderem Sinne, sie gibt weder Substanz ab, noch nimmt sie solche auf, bleibt also der Menge nach unverändert. Nach Liebig sollten es stickstoffhaltige Verbindungen sein, wie Albumin, Kasein, Fibrin u. dgl. oder die Flüssigkeiten, welche sie einschließen, wie Milch, Blut, Urin, die in Berührung mit Luft von dieser den ersten Anstoß zum Zerfall erhalten. Zu der Auffassung, daß die Luft ein primum movens bei Gärungsvorgängen abgebe, war Gay-Lussac gelangt gelegentlich der Beobachtung, daß Most nach jahrelanger Aufbewahrung nach dem Appertschen Verfahren nach bloßem Umgießen in ein anderes Gefäß in kurzer Zeit in Gärung überging.

A. Mayer (1869) benutzte nicht wie Pasteur und Duclaux weinsaures Ammon, sondern salpetersaures Ammon nebst Zucker und zeigte so, daß die Hefe ihren C-Bedarf dem letzteren entzog.

A. Schulz (1878) züchtet den Kahmpilz in weinsaurem Ammoniak und Alkohol und stellt durch Analyse fest, daß der C-Zuwachs in der Hefe größer ist, als dem vorhandenen C in der Weinsäure entspricht.

Nägeli (1879) fand bei Durchlüftung einer mit Bierhefe angestellten Lösung von weinsaurem Ammon und Zucker eine 12fache Vermehrung der Hefetrockensubstanz und eine Zunahme des Fettes von 5 auf 12,5%. Dabei war von 1 g Hefe (Trockengewicht) 40 g Rohrzucker vergoren worden.

Winogradski (1884) findet Kalzium für Mykoderma entbehrlich, jedoch nicht Mg; Kalium kann durch Rubidium vertreten werden.

E. Laurent (1890) findet die einfachen Alkohole der Fettreihe, die Fettsäuren, ferner Benzoesäure, Salizylsäure usw. für Hefe nicht assimilierbar, dagegen Essigsäure in Form ihrer Alkalisalze, Milchsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Glyzerin, Mannit und die meisten Hexosen brauchbar.

Wehmer benutzt 1891 mit Erfolg mineralische Nährlösung + 3—7% Alkohol zur Kultur von Penicillium.

W. Seyfert (1900) bringt 36 Stunden alte Mykodermakulturen auf den feuchten Gipsblock bei 25° C und stellt nach 24 Stunden fettige Körperchen in den Zellen fest.

Van Laer (1901) findet, daß auf weinsaurem Ammon allein Mykoderma nicht angeht, jedoch bei Alkoholzugabe kräftig wächst. In 100 ccm der Mayerschen bezw. der Nägelischen Lösung mit je 3% Alkohol erhält er 0,554 bezw. 0,576 g Erntegewicht. Freies Ammoniak, koaguliertes Eiweiß, Fibrin, Kasein, Gluten sind für Mykoderma nach ihm nicht als N-Quellen brauchbar. Der Alkohol kann nicht durch Dissaccharide ersetzt werden, wohl aber durch Dextrose in der Mayerflüssigkeit, jedoch bleibt auch Dextrose unberührt, wenn $CaCl_2$ statt $Ca_3(PO_4)_2$ gebraucht wird. Mykoderma auf

Bier mit 12% Alkoholzusatz gibt keine Hautbildung, dagegen auf Würze + 12% Alkohol. In 150 ccm Hefewasser, dem 3% Dextrose zugegeben, beträgt das Zellengewicht nach dem Verschwinden der Dextrose 1,687 g, bei 3% Alkohol (statt Dextrose) war derselbe schon nach Bildung von 1,114 g Zellen aufgebraucht. Alkohol wird also schneller assimiliert und verbraucht bezw. veratmet als Zucker. Noch mehr ersichtlich ist die Bevorzugung des Alkohols durch folgende Versuche. Hefewasser + 5% Dextrose + 3% Alkohol enthielt nach 7 Tagen noch 3,2% Dextrose, aber nur 0,3% Alkohol.

Nach 8 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser allein	0,454 g	
„ + 3% Alkohol	1,971 g	und 0,5% Alkoholrest
„ + 2% Maltose	0,776 g	„ 1,4% Maltoserest
„ + 2% „ + 3% Alkohol	2,189 g	„ 2% „ 0,5% Alkoholrest
Nach 30 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser + 3% Alkohol	2,059 g	u. 0% Maltoserest 0% Alkoholrest
Nach 8 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser + 2% Saccharose	0,463 g	
Nach 30 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser + 2% Saccharose	0,460 g	
Nach 8 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser + 2% Saccharose „ + 3% Alkohol	1,685 g	u. 2% Saccharoserest 0,5% Alkoholrest
Nach 30 Tagen gab		ein Zellengewicht von
Hefewasser + 2% Saccharose „ + 3% Alkohol	1,960 g	u. 0% Saccharoserest 0% Alkoholrest

Die Mykodermaernte von mehreren Litern Würze, mit Äther extrahiert, ergab 12 g eines grünlichen Fettes, das aus wenig Olein neben festen Glyzeriden bestand.

Wildier behauptet 1901, daß eine Substanz „Bios" nötig sei, um Hefe bei geringster Aussaat in mineralischer Nährlösung zum Wachsen zu bringen.

Perrier zeigt 1903, daß in mineralischer (Raulinscher) Lösung sowohl mit Zucker als auch mit Alkohol als C-Quelle Eurotiopsis Gayoni reichlich Fett bildet.

Kossowicz stellte 1903 zahlenmäßig die Vermehrung verschiedener Hefen, wie von der Weinhefe S. ellipsoideus I Hansen und der Brennereihefe Rasse II in Ammonsalz-Zuckerlösungen fest und beobachtete auch, daß Schimmelpilze und Kahmhefen die Hefevermehrung darin auffallend begünstigen. Eine Andeutung, daß die Hefezüchtung in Ammonsalzen technisch bedeutungsvoll sein könnte, gibt er jedoch nicht.

Chrzaszcz (1904) stellt in ähnlichen Versuchen die günstige Wirkung von löslichem einfach basischen Kalzium- und Magnesiumphosphat auf die Hefevermehrung fest.

P. Lindner bringt 1905/6 die Ergebnisse zahlreicher Assimilationsversuche mit Hefen auf Ammonsulfat-Zuckeragar. Woch. f. Brauerei 1905, Nr. 40 u. 1906, Nr. 40.

1908 erscheint eine Arbeit von Hasselbring „The Carbon Assimilation of Penicillium in Botanical Gazette 45; er züchtet den Pilz in einer mineralischen Nährlösung mit 1 g NH_4NO_3, 0,5 g KH_2PO_4, 0,25 g $MgSO_4$ in 100 ccm und benutzt als C-Quelle Alkohol, äthylschwefelsaures Kali ($C_2H_5KSO_4$), Äthylnitrat ($C_2H_5NO_3$), Äthylazetat ($CH_3COOC_2H_5$), Kaliumazetat (CH_3COOK) und Essigsäure (CH_3COOH). Jede Flasche erhielt 50 ccm der Nährlösung. Nach 10 Tagen wurde der Pilz geerntet und das Trockengewicht bestimmt.
Bei Zugabe von 0,46 g Alkohol (= 0,2 g Moleküle im Liter) erhielt er nach 10 Tagen etwa 115 g Trockenpilz.
Bei Zugabe von 0,69 g Alkohol (= 0,3 g Moleküle im Liter) erhielt er nach 10 Tagen 93 g Trockenpilz,
Bei Zugabe von 0,69 g Alkohol (und 0,004 n HCl bezw. n HNO_3 bezw n H_2SO_4 stieg die Ernte auf 118 bezw. 144 bezw. 141 g Trockenpilz.
Geringe Säurezugaben wirkten also wachstumsfördernd, besonders kräftig die Salpetersäure. Die Flasche mit Salzsäure erhielt noch 0,25 g KCl pro 100 ccm, um die Einführung eines neuen Ions, Cl zu vermeiden. Keine Kultur zeigte Sporenbildung. Die Esterverbindungen von Alkohol mit Mineralsäure sind als C-Quelle wertlos. Nur die leicht oxydierbaren Verbindungen besitzen einen Nährwert für den Pilz.

Der Alkohol tritt wahrscheinlich erst nach einer Dissoziation in Äthyliden und Wasser mit den Bestandteilen des Protoplasmas in Verbindung. $CH_3CH_2OH \leftrightarrows CH_3CH = + HOH$. Bei gewöhnlicher Temperatur geht nur $0{,}01\,\%$ des Alkohols diese Dissoziation ein, bei 650^0 dagegen $100\,\%$. In Verbindung mit Säuren steigert sich dieselbe bedeutend, so bei der Äthylschwefelsäure $CH_3CH_2OSO_2OH \leftrightarrows CH_3CH = + \begin{matrix}-H\\-OSO_2OH\end{matrix}$. Die Schwefelsäure regeneriert und verbindet sich von neuem mit Alkohol zu Äthylschwefelsäure, während das Äthyliden Wasser zersetzt, um Äther zu bilden:

$$\begin{matrix}CH_3CH<^{H}_{O}\\CH_3CH<_{H}\end{matrix}.$$

Gegen eine Bindung des zweiwertigen Äthyliden $CH_2CH =$ mit Protoplasma als Einleitung der Assimilation spricht, daß ätherschwefelsaures Kali, das sehr stark dissoziiert, als C-Quelle nicht vom Pilz verwendet wird.

Eine andere Wahrscheinlichkeit ist, daß Alkohol zu Aldehyd oder gar zu Essigsäure oxydiert wird. Die Förderung der Pilzernte durch die oxydierende Salpetersäure spricht sehr dafür. In den Kulturen konnte jedoch

keine Essigsäure nachgewiesen werden, auch dann nicht, wenn die Nährlösung unter der Pilzhaut entfernt und durch Alkohol (0,3 G. M.) ersetzt wurde. Duclaux hat ebenfalls nicht Essigsäure bei Aspergillus-Kulturen mit Alkohol nachweisen können, dagegen Oxalsäure. Bei Penicillium konnte Hasselbring keine Oxalsäure als Zwischenprodukt feststellen.

Bei der Kultur in Äthylazetat wurde beobachtet, daß die Säure ansteigt, folglich ist Alkohol schneller absorbiert als das Säureradikal und die Oxydation bis zur Säure scheint für den Pilz nicht zweckmäßig. Die Oxydation scheint beim Azetaldehyd still zu stehen. Von diesem kann nun die Zuckersynthese ausgehen. Die Oxydation des Alkohols zu Azetaldehyd vollzieht sich leichter, als die Reduktion der Essigsäure zu Azetaldehyd. Das langsame Wachstum des Pilzes auf essigsaurem Kalium spricht dafür. Das Essigsäureion wird zwar assimiliert, aber viel schwieriger als Alkohol.

1911 wurden von Lindner und Cziser die Reinkulturen der Berliner Sammlung auf ihr Assimilationsvermögen gegenüber Alkohol als einziger Kohlenstoffquelle in mineralischer Nährlösung geprüft und auf Anregung von Lindner dann von der V. L. B. ein Patent zur Züchtung von Hefen in Alkohol und mineralischer Nährlösung angemeldet, da sowohl auffallend große als auch durch rein weiße Farbe ausgezeichnete Hefe- und Pilzernten erzielt wurden. Hier war also die Verwendung der mineralischen Nährlösung mit Ammonsalzen als alleiniger Stickstoffquelle als technisches Verfahren ins Auge gefaßt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ernten wurde auch das Auftreten von Fett beobachtet. 1912 erschien die umfangreichere Mitteilung über die Alkoholassimilationsversuche, 1913 eine Ergänzung derselben über „Das Wachstum einiger Hefen und Pilze in gleichprozentigem Alkohol und Zuckerlösungen. 1914 lieferte dann noch Baudrexel einen weiteren Beitrag zu dem Thema: der Alkohol ein mehr oder weniger ausgezeichneter Nährstoff für verschiedene Pilze.

Auf Grund der Alkoholassimilationsversuche benutzte dann F. Ehrlich den Alkohol als Kohlenstoffquelle bei der Spaltung der Aminosäuren durch Gärung und erzielte dabei den Vorteil, daß die Produkte in großer Reinheit gewonnen werden konnten, was bei der Anwendung von Zucker als C-Quelle nicht der Fall war. Seit 1912 wurden an die Gärungsbetriebe von der V. L. B. Kulturen, welche den Nährwert des Alkohols darstellen, abgegeben.

A. Marbach benutzte seit 1913 schwefelsaures Ammon als Stickstoffquelle in Verbindung mit Melasse zur Hefeerzeugung im großen (Österr. Chemiker-Zeitung, 18. Jahrg. Nr. 8).

Kossowicz bringt in derselben Zeitschrift, Nr. 10, 1915, eine „Bemerkung zu A. Marbach, Neues Verfahren der Hefeerzeugung aus Zucker und Mineralsalzen“ und sagt zum Schluß:

„Die Ausnützungsmöglichkeit anorganischer Ammoniumverbindungen, wie salzsaures, schwefelsaures, phosphorsaures Ammon, durch größere Hefemengen und deren Überführung in organischen Stickstoff, also in Hefeneiweiß, ist, wie aus den vorstehenden Ausführungen deutlich genug hervorgeht, der Wissenschaft nicht neu und wird ein Prioritätsstreit über die Einführung darauf beruhender Methoden in die Praxis der Gärungsgewerbe am zweckmäßigsten zu verschieben sein, bis das Berliner Institut für Gärungsgewerbe genauere Angaben über das ihm zugeschriebene Verfahren veröffentlicht haben wird.“ Im Heft II des VI. Bandes dieser Zeitschrift sind die auf die Mineralhefe bezüglichen Arbeiten ziemlich vollständig referiert und sei darauf verwiesen.

Die von Nagel und auch von Foth in Z. f. Spiritusindustrie 1915, Nr. 13, angegebenen Verfahren, Mineralsalze statt pflanzlicher Stoffe als N-Quellen zu benutzen, gingen zunächst darauf aus, konzentriertere Rohzuckerlösungen zu vergären. Dabei wurde von ersterem auch eine ganz gute Hefeernte (Hefe M, obergärig) festgestellt. Mit der Gewinnung des Luftstickstoffes und der Möglichkeit einer billigen Herstellung von Ammonsalzen kam dann die Frage der Mineralhefefabrikation in Fluß. Nach den früheren Versuchen von Lindner und Stockhausen zeigten die luftliebenden Hefen vom Kahm- und Torulatypus in Ammonsalznährlösungen ein ausgezeichnetes Assimilationsvermögen und war es darnach vorauszusehen, daß nicht die Kulturhefen die Maximalernten liefern würden. Die Mineralhefe des Instituts für Gärungsgewerbe ist in der Tat keine Kulturhefe. Für ihre schnelle Einführung waren die voraufgegangenen erfolgreichen Bemühungen der Hefeschnelltrocknung von wesentlicher Bedeutung. Es sei hier auf die Broschüre von Dr. Max Winkel, „Die wirtschaftliche Bedeutung der Hefe als Nahrungs-, Futter- und Heilmittel“, München 1916, Verlag Carl Gerber verwiesen, welche auch den Entwicklungsgang der neuen Hefeindustrie schildert, allerdings nicht vollständig. Die Fütterung von frischer und getrockneter Hefe war schon lange bekannt und hatte Lindner in zwei Vorträgen im Jahrbuch der V. L. B. 1903 und 1904 bereits diesbezügliche Erfahrungen aus der Praxis gesammelt und veröffentlicht (455—460). Insbesondere hatte eine Mitteilung eines Bauers über die günstige Wirkung der Hefeverfütterung bei Milchvieh auf Milchertrag und Gesundheitszustand und eine vergleichende Kotuntersuchung die Bedeutung der Hefe als Futtermittel nahegelegt. Auf diesen Vortrag hin versuchte es Herr Braumeister Grohmann in Dresden-Plaue mit der Trocknung der Bierhefe ohne Zumischung von Trebern u. dgl. und erhielt ein Produkt von halber Faustgröße und eckiger Form, von dem Proben noch in der Schausammlung des Instituts vorhanden sind. Leider fand diese, in einem mit Dampf geheizten Trockenofen hergestellte Hefe keine Abnehmer, obwohl sie zunächst umsonst zur Schweinefütterung angeboten und für etwaige gesundheitliche Schäden Entschädigung versprochen

wurde. Einige Jahre später erst kam die Maschinenfabrik in Oschatz mit ihrem Hefetrockenapparat heraus, mit dem sie 1903 zum erstenmal Trockenhefe hergestellt hatte, die von der sächsischen landwirtschaftl. Versuchsstation Möckern als wertvolles Futtermittel anerkannt wurde. Im Jahre 1904 wurden auf ihre Veranlassung von der Nahrungsmittelfabrik von Dr. Klopfer, Dresden-Leubnitz Versuche zum Entbittern der Hefe vorgenommen (nach brieflicher Mitteilung vom 17. November 1919).

Im Oktober 1903 hat Lindner im Ausschuß für Hefe, Gärung und Kellerwirtschaft den Antrag gestellt: die V. L. B. möge Versuche anstellen, die Hefe in rationeller Weise zu trocknen, event. unter Beimischung von Feuchtigkeit aufsaugenden anderen Stoffen.

Lindner war (Jahrbuch V. L. B. 1903, S. 435) auf den Gedanken der Nutzbarmachung der Hefe für Nährzwecke gekommen infolge der Beobachtung, daß in Tröpfenkulturen gealterte Hefezellen plötzlich wieder aussprossen zu üppigen Sproßverbänden, was nur möglich ist durch Ausnutzung der Stoffwechselprodukte der bereits abgestorbenen oder schon absterbenden Zellen. Als Prof. Kutscher-Marburg dann die Mitteilung machte, daß die Selbstverdauungsprodukte der Pankreasdrüse und der Hefe ziemlich den Bestandteilen des Liebigschen Fleischextraktes entsprechen, entschloß er sich, Assimilationsversuche mit den verschiedenen Hefen und Pilzen seiner Sammlung gegenüber Leuzin, Tyrosin u. dgl., die ihm Prof. Kutscher zur Verfügung stellte, zu machen.

Es lag ihm dabei auch die Absicht zugrunde, die Bezeichnung Faex cerevisiae für Hefe, die auch Bail in seiner Dissertation „de faece cerevisiae“ 1857 gebraucht hatte, als ungerechte Herabsetzung zu brandmarken. Eine Ehrenrettung brachte dann ein Vortrag von M. Delbrück in Brüssel, der „Die Hefe ein Edelpilz“ betitelt war. Die eigentliche technische Entwicklung der Nährhefenfrage hat erst nach der Brüsseler Tagung eingesetzt und in dem Bau einer Anzahl Hefetrocknungsanlagen ihren vorläufigen Abschluß gefunden.

Über die Herstellung der sog. Eiweiß- oder Mineralhefe fehlen noch ausführlichere Mitteilungen. Wohl und Scherdel haben neuerdings ein Verfahren (Patent Nr. 310580 Klasse 6 Gruppe 5) beschrieben, bei dem sie gärkräftige Preßhefe gewinnen unter Benutzung von etwa gleichen Teilen Ammoniakstickstoff und organischem Stickstoff.

Referate.

Lintner, C. J. Über die Nichtexistenz eines stärkebildenden Enzyms „Hemizellutase" im Malz. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 269.

In den letzten Nummern der „Wochenschrift für Brauerei" fand sich die Übersetzung einer Arbeit von Ch. B. Davis, dem der Nachweis eines Enzyms im Malz gelungen sein sollte, das Hemizellulosen in Stärke umwandeln könne. Einer Nachprüfuug von Windisch u. Foerster hielt diese Entdeckung jedoch nicht stand. Nach Lintners Ansicht ist der Nachweis der Hemizellutasewirkung durch das Auftreten der blauen Jodstärkereaktion auf eine irrige Deutung dieses Befundes durch den Amerikaner zurückzuführen. Im Kleister kommen nämlich Stärkegele vor, die bei gewöhnlicher Temperatur von Diastase fast gar nicht angegriffen werden und mit Jod intensive Blaufärbung geben. In Wasser zerteilt und auf höhere Temperatur gebracht gehen diese Gele in Sole über, die mit Jod intensive Blaufärbung geben. Der Stärkekleister stellt nach Fouard ein Gemenge von Stärkegelen und Solen in allen möglichen Teilchengrößen dar. Wahrscheinlich geben nur die Sole mit Jod Blaufärbung und werden durch Diastase verzuckert. Bei entsprechenden Konzentrations- und Temperaturverhältnissen werden aus den Gelen immer neue Sole gebildet und von der Diastase gespalten. Im ersten Stadium der Diastasewirkung, sobald alle Stärke scheinbar gelöst ist, sind noch reichlich Komplexe vorhanden, die sich beim Abkühlen als Gele ausscheiden und dabei mit Jod sich bläuende Sole absorbieren. Bei Einwirkung eines Malzauszugs bei gewöhnlicher Temperatur verschwinden allmählich die mit Jod blau reagierenden Sole, so daß die sich nicht färbenden Gele zurückbleiben. Davis arbeitete bei seinen Versuchen mit einer aus Stärkekleister gewonnenen gelatinösen Substanz „Hemizellulose". Diese ist jedoch in Wirklichkeit nichts anderes als mit Jod sich nicht färbendes Stärkegel, das in Wasser auf 80° erhitzt mit Jod sich blaufärbende Sole liefert. Dadurch daß Davis die geschilderten Umwandlungsvorgänge nicht in Rechnung zog, leitete er aus seinen Versuchsergebnissen falsche Schlüsse ab. Die von ihm auf Grund der angeblichen „Hemizellutasewirkung" erhaltenen hohen Extraktzahlen dürften vermutlich auf Analysenfehlern beruhen.

R. Heuß.

Windisch, K. Der Endvergärungsgrad der Biere, seine Regelung und seine Beziehungen zum Bottich- und Ausstoßvergärungsgrad der Biere. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 285.

Dem Endvergärungsgrad der Biere — gemeint ist immer der „scheinbare" Endvergärungsgrad — wird nach Ansicht des Verfassers noch viel zu wenig Beachtung geschenkt. Der Endvergärungsgrad gibt ein zuverlässiges

Maß für den Gehalt einer Würze an vergärbarem Zucker. Er soll weder zu hoch, noch zu niedrig sein. Ist er zu hoch, so können in der Praxis zwei Fälle eintreten: entweder wird der noch vorhandene Zucker bei der Bottich- oder Faßgärung ganz oder größtenteils vergoren, dann kann sowohl der Geschmack wie auch die Schaumhaltigkeit des Bieres leiden. Oder aber es bleibt ein größerer Teil des Zuckers unvergoren, dann besteht für die Haltbarkeit des Bieres Gefahr, indem schon vorhandene Organismen diesen Zucker in dem abgefüllten Bier vergären, sich vermehren und Trübung verursachen. Bei zu nieder liegendem Endvergärungsgrad enthält das Bier in der Regel zu wenig Alkohol und befriedigt geschmacklich nicht. Über die Höhe eines normalen Endvergärungsgrades findet man an keiner Stelle irgendwelche Vorschriften. Auch an berühmten Braustätten findet man statt der erwarteten Gesetzmäßigkeit große Mannigfaltigkeit. Man kann daraus schließen, daß auch an diesen Stellen nicht zielbewußt auf einen bestimmten Endvergärungsgrad hingearbeitet wird. Nur so viel steht fest, daß helle Biere einen höheren Endvergärungsgrad aufweisen sollen und meist auch aufweisen, als dunkle Biere. Auf Grund seiner Erfahrungen sieht Verfasser für helle Biere einen Endvergärungsgrad von 72—75%, für dunkle einen solchen von 67—70% als normal an. Die Regelung des Endvergärungsgrades erfolgt beim Maischen. Das Verhältnis der unvergärbaren Dextrine zu den vergärbaren Zuckerarten wird hauptsächlich von der Höhe der im Sudhaus eingehaltenen Temperatur bestimmt. Niedrigere Verzuckerungstemperaturen bis etwa 65° C begünstigen die Bildung größerer Zuckermengen, höhere Temperaturen (67—68° C oder mehr) halten die Bildung von vergärbarem Zucker stark in Schranken. Die Vergärung im Bottich und auf dem Faß soll gleichfalls geregelt sein. Stark eingebraute Biere, namentlich Exportbiere, sind beim Ausstoß oft endvergoren, ohne daß ihr Geschmack leidet. Im allgemeinen ist dies jedoch nicht erwünscht. Der Unterschied zwischen Endvergärungsgrad und Ausstoßvergärungsgrad soll so geregelt sein, daß nicht aller Zucker schon vergoren ist. Der Bottichvergärungsgrad soll zum Ausstoßvergärungsgrad in einem bestimmten Verhältnis stehen. Es soll beim Schlauchen noch so viel Zucker vorhanden sein, daß im Bier die zum Wohlgeschmack gehörende Menge Kohlensäure noch gebildet werden kann.

Verfasser faßt seine Beobachtungen über die Zusammenhänge zwischen Endvergärungsgrad, Ausstoßvergärungsgrad und Bottichvergärungsgrad in folgenden Sätzen zusammen: 1. Ausschlaggebend für den Vergärungsgrad des Bieres beim Fassen und beim Ausstoß ist der Endvergärungsgrad. 2. Der Ausstoßvergärungsgrad soll dem Endvergärungsgrad bei hellen Bieren bis auf 3—4%, bei dunklen Bieren bis auf 5—7% nahekommen. 3. Der Unterschied zwischen dem Ausstoßvergärungsgrad soll 10—16% betragen, wobei die höhere Zahl für schwächere, die niedrigere für stärkere Biere gilt.

R. Heuß.

Heuß, R. Versuche mit einer Bottichglasur. Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen 1915, 38, S. 161.

Bei der Erörterung der Frage, ob sich eine Glasur für Gärbottiche eignet, sind in erster Linie folgende Punkte zu beachten: Die Widerstandsfähigkeit der Glasur gegen gärende Würze und die bei der Gärung auftretenden Erscheinungen. Etwaige geschmackliche Beeinflussung der gärenden Würze bezw. 4⁰/₀igen Alkohols. 2. Die Widerstandsfähigkeit gegen die gebräuchlichen Desinfektionsmittel in der bei Bottichen angewandten Konzentration. 3. Die Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Reinigung.

Die in dieser Richtung geprüfte Bottichglasur ist die von der Firma Rosenzweig und Baumann in Kassel vor einigen Jahren auf den Markt gebrachte „Schildkrötenglasur“. Nach dem Ergebnis der Untersuchungen befriedigt sie alle an sie gestellten Ansprüche, da sie sehr haltbar ist, keinen Geschmack abgibt und durch mechanische Reinigung mittels Bürsten kaum angegriffen wird. Gegen die meist gebräuchlichen Desinfektionsmittel ist die Glasur gleichfalls sehr widerstandsfähig. Die im Betrieb damit gemachten Erfahrungen lauten günstig. R. Heuß.

Heuß, R. Aluminiumfarbe als Anstrich für hölzerne Gärbottiche. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 38, 1915, S. 177 u. 185.

Im Herbst vorigen Jahres berichtete Windisch über eine Neuerung in der Brauerei, die er noch kurz vor Kriegsausbruch in Belgien kennen gelernt hatte und die darin bestand, Hefewannen und Gärbottiche nicht mehr mit einem Lackanstrich, sondern mit einem Anstrich von Aluminiumfarbe zu versehen, was sich sehr gut bewährt haben sollte. Über in deutschen Brauereien angestellte Versuche wurde gleichfalls vielfach günstig berichtet.

Verfasser prüfte die in Belgien verwandte Aluminiumfarbe „Novosol“ der Firma J. C. Schultze in Berlin-Neukölln, sowie zwei andere im Handel befindliche Marken einer andern Firma mit Hilfe kleiner, eichener Versuchsbottiche auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen gärende Würze und die bei der Gärung auftretenden Erscheinungen sowie gegen mechanische und chemische Reinigung, da ein Innenanstrich für Gärbottiche doch wohl nur dann für brauchbar angesehen werden kann, wenn er sich in der durch die Versuchsanstellung gekennzeichneten Richtung entsprechend bewährt. Die Versuche ergaben folgendes: 1. Die Anstriche beeinflussen die Gärung und die damit zusammenhängenden Erscheinungen in keiner Weise. Sie geben weder an gärende Würze, noch an 4⁰/₀igen Alkohol Geschmack ab und werden von den Gärungen nicht in nennenswertem Maße angegriffen. 2. Die Anstriche werden von fast allen gebräuchlichen Desinfektionsmitteln in der bei Bottichen üblichen Konzentration mehr oder weniger stark angegriffen. Eine Ausnahme macht nur Formaldehyd. 3. Gegen mechanische Reinigung mit Bürsten sind die Anstriche gleichfalls sehr wenig widerstandsfähig.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse halten wir die Verwendung von Aluminiumfarbe zum Innenanstrich von Holzbottichen nicht für geeignet.
R. Heuß.

Mansfeld, R. Beitrag zur biologisch einwandfreien Funktion der Abfüllapparate. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1915, 38, S. 220.

Für das fertig filtrierte Bier, das des Schutzes der Kulturhefe entbehrt, sind die auf natürlichem Wege in Bierresten sich ansammelnden Fremdorganismen häufig die gefährlichsten Infektionserreger. Im Brauereibetrieb hat man darum besonders zu bekämpfen: 1. Jede Verwendung des Restbieres zum Nachstechen, Verteilen usw. 2. Die Infektion der Abfüllanlage bei jedesmaligem Abfüllen von Restbier. 3. Die Infektion des normalen Bieres beim Faßabfüllen mit Gegendruckapparaten durch den Schaumüberlauf aus den Transportfässern in den Gegendruckkessel. 4. Die gleiche Infektion beim Flaschenfüllapparat durch die in den Flaschen zurückgebliebenen Bierreste.

Die vorliegende Abhandlung befaßt sich insbesondere mit der Möglichkeit, inwieweit eine Infektion des gesunden Bieres durch aus Fässern oder Flaschen infiziertes Bier im Lagerkeller und beim Abfüllen verhindert werden kann. Auf die Infektionsgefahr durch die Abfüllapparate durch Rückluft und Überlaufbier ist schon von verschiedenen Seiten aufmerksam gemacht worden. So hat z. B. Casparé ein eigenes Leitungssystem für den Gegendruckapparat erdacht, um sowohl Rückluft als Rückbier unschädlich zu machen. Auch sonst ist man schon vielfach dazu übergegangen, wenigstens das besonders gefährlich erscheinende Überlaufbier nicht mehr in den Bierkessel zurück-, sondern in ein besonderes Gefäß wegzuleiten. Um nun auch noch die Rückluft keimfrei und damit unschädlich zu machen, müßte man sie auf dem Rückweg in den Gegendruckkessel ein steriles Wattefilter passieren lassen. Das Restbier selbst ist am besten für sich getrennt an eigener Anlage oder wenigstens als letztes vor der Reinigung des Apparates abzufüllen und rasch dem Konsum zuzuführen. Casparé schlug eine Pasteurisierung desselben vor, eine Maßregel, die ziemlich umständlich erscheint. R. Heuß.

Wüstenfeld, H. Versuche mit dem Seitzschen Essigfilter „Terra". Die deutsche Essigindustrie 1915, 19, S. 138.

Bei der Versuchsessigfabrik ist seit dem Jahr 1912 ein Tonfilter der Firma Seitz zu Versuchszwecken im Gebrauch, das sich nach den jetzt vorliegenden Ergebnissen gut bewährt hat. Man hat damit sowohl bei der schnellen Massenfiltration von einfachem Spritessig, wie auch bei der Feinfiltration von Qualitätsessigen gute Resultate erzielt, indem man selbst aus ganz bakterientrüben Essigen kristallblanke, vollkommen faserfreie Filtrate erzielte. Besonders letztere Eigenschaft ist bei der Essiggewinnung nach dem Orléansverfahren ein Vorzug, da man dadurch in die Lage versetzt wird,

nicht mehr bloß mit gut klärenden Rassen vom Typus B Xylinoides bezw. Orléanense Hbg., sondern auch mit solchen zu arbeiten, die den Essig zuweilen vorübergehend trüben (z. B. Bact. ascendens u. a.). Das Filtrat wird natürlich in diesem Fall erst nach öfterem Zurückgießen völlig klar. Die Filtration ersetzt natürlich nicht die Pasteurisation, wie ab und zu fälschlich angenommen wird, stellt aber ein geeignetes Mittel dar, sich durch Herstellung glanzheller Essige seine Kundschaft zu erhalten. R. Heuß.

Windisch, W. Praktische Erfahrungen und wissenschaftliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Malz- und Bierbereitung während des Krieges. Wochenschr. f. Brauerei 34. 1917. S. 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 75, 81, 93, 101, 113, 121 u. 129.

Verfasser will in seinem auf der Oktobertagung 1916 der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin gehaltenen Vortrag vor allem einige Rückblicke auf die während des Krieges in praktischer und wissenschaftlicher Hinsicht gemachten Erfahrungen geben. Die Art des heutigen Bierbrauens weicht von den alten Brauertraditionen wesentlich ab. Der Gersten- und Malzmangel ließ den schwer betroffenen Brauereien zwei Wege offen: entweder man braute das Bier in altgewohnter Weise weiter, solange der Malzvorrat reichte, und hörte eines schönen Tages mit dem Brauen auf, oder aber man hielt den Betrieb durch Herstellung leichterer Biere aufrecht, indem man den Stammwürzegehalt langsam abbaute. Die Erwartungen, die man diesen leichten Bieren entgegenbrachte, waren nicht sehr hoch, man wurde jedoch vielfach angenehm enttäuscht durch die Eigenschaften dieser dünneren Biere, bei denen insbesondere die Schaumhaltigkeit meist überraschend befriedigte. Die Kampagne 1915/16 brachte neue Sorgen, die Gerste wurde noch knapper zugewiesen und war in ihren Eigenschaften nicht befriedigend. Insbesondere hegte man Befürchtungen wegen des hoch liegenden Eiweißgehalts. Windisch betrachtete jedoch diesen hohen Eiweißgehalt eher als ein Glück für die Brauer, da er wesentlich zu einer guten Schaumhaltigkeit und Vollmundigkeit der Biere beitrug. Die Lösung der Gersten auf der Tenne war unbefriedigend, doch erzielte man vielfach Erfolge mit der bewußten Herstellung von Kurzmalz. Man mußte eben sehen, wie man mit den zugewiesenen Gersten, die natürlich die verschiedensten Eigenschaften aufwiesen und nicht nach Wunsch ausgewählt werden konnten, fertig wurde. Solche Betriebe, die schon früher mit mangelhaft gelösten Malzen umzugehen gelernt hatten, sahen den schlechten Gersten und Malzen natürlich viel ruhiger entgegen als andere Brauereien, denen solche Malze neu waren. Im Einklang mit der Verarbeitung auf der Tenne mußte natürlich die Sudhausarbeit stehen. Gute Erfolge wurden mit dem Vormaisch-Eiweißrastverfahren erzielt, das nach Ansicht von Windisch bei richtiger Anwendung das gegebene Maischprinzip für unterlöste Malze darstellt. Es ist zugleich mit einer in

den jetzigen Zeiten nicht zu unterschätzenden Mehrausbeute verbunden. Nachteilig wurde an ihm früher öfters der sog. Vormaischgeschmack empfunden, doch wurde dieser infolge der Verdünnung der Biere, mit der naturgemäß auch eine Verdünnung der unerwünschten Geschmacksstoffe Hand in Hand geht, weniger unangenehm empfunden. Als mit in Frage kommende Ursachen dieser Erscheinung führt Windisch die Temperatur der über Nacht stehenden Maische, die Beschaffenheit des Brauwassers, vor allem aber die Hülsen an. Letztere sollten daher erst beim eigentlichen Maischprozeß zugegeben werden. Im allgemeinen wurden mit dem Vormaisch-Eiweißrastverfahren günstige Erfahrungen gemacht. Der Geschmack der Kriegsbiere überhaupt befriedigte mehr, als man ursprünglich angenommen hatte. Verfasser führt diese Erscheinung auf die bereits oben gestreifte Verdünnung aller Geschmacksstoffe — auch der schlechten — in den leichteren Bieren zurück. Wesentlich für die gute Schaumhaltigkeit eines Bieres ist vor allem auch ein guter Kohlensäuregehalt, der auch für den Geschmack und die Haltbarkeit des Bieres von größter Wichtigkeit ist. Richtige Spundung und vor allem nicht zu niedrige Vergärung, namentlich bei hellen Bieren, sind hier sehr wesentlich. Hochvergärbare und hochvergärende Würzen waren den Kriegsverhältnissen am meisten angemessen. Ebenso wichtig sind natürlich Art und Eigenschaften der verwendeten Hefe. Oft versagt eine Hefe, die vorher tadellos arbeitete, ganz plötzlich, ohne daß man sich den Grund dieser unangenehmen und in manchen Jahren chronisch auftretenden Erscheinung erklären kann. Man hat dabei schon an die Wirkung gewisser Hefengifte gedacht. Verfasser ist jedoch eher der Ansicht, daß die Ursache des plötzlichen Unvermögens in rein mechanischen Gründen zu suchen ist, indem die Hefe durch gewisse Körperchen einfach „verschmiert" wird. Durch Maßnahmen, die der Bildung solcher Teilchen entgegenwirken, konnte Besserung erzielt werden. Hierher gehören Verbesserung des Brauwassers, künstliche Säuerung, Vormaisch-Eiweißrastverfahren usw. Für die Güte der Biere ist eine gute, gesunde Bottichgärung von größter Bedeutung. Unnormale Gärung fällt meist mit Übelständen in Mälzerei und Sudhaus zusammen. Erwünscht ist meist eine flotte, d. h. hintereinander weg gehende und relativ hohe Vergärung auf dem Bottich zur Erzielung eines reinen, schneidigen Geschmacks. Biere aus trägen und stockenden Vergärungen haben nicht das richtige Alkohol-Extraktverhältnis. Der Alkohol trägt aber nicht nur zur besseren Haltbarkeit des Bieres bei, er ist auch ein immer noch nicht genügend gewürdigter Geschmacksbestandteil des Bieres, der die Zunge angenehm beschäftigt und auch zur Vollmundigkeit beiträgt. Hohe Vergärung ist auch ein Gegengewicht gegen gewisse unerwünschte Ausscheidungen des Bieres, da der Säuregrad, von dem die Auscheidungen abhängig sind, dadurch erhöht wird. Die Gärführung soll nach Ansicht des Verfassers nicht zu warm gehalten werden, obwohl dies für die Lebensdauer und Reinheit der Hefe besser

wäre. Kalt vergorene Biere sind im Geschmack edler und reiner. Die Hefe ist — sofern sich nicht ein Wechsel infolge Nachlassens der Vergärung empfiehlt — erst zu wechseln, wenn die Klärung des Bieres auf dem Schaugläschen nicht mehr befriedigt. Oft erzielt man auch mit einer andern Hefe nicht den gewünschten Erfolg, da sich manchmal die Würze in ihrem Charakter nicht eignet. Ändert man diesen, z. B. durch Verbesserung des Brauwassers, biologische Säuerung, Änderung des Maischverfahrens, so ändert in der Regel auch die vorher beanstandete Hefe ihr Verhalten und entartet nicht mehr so leicht. Empfehlenswert ist immer der Bezug von Hefe durch Vermittlung einer Untersuchungsstation und Herführung im eigenen Betrieb, beispielsweise nach dem Verfahren von Stockhausen-Coblitz. Auftretender Hefegeschmack im Bier, sogenannter Einfachbiergeschmack, wird öfters in Bieren beobachtet, die bei der Gärung warm geführt wurden, als bei solchen mit kälterer Gärführung. Auf die frühzeitigere Entartung der Hefe übt natürlich auch die verringerte Konzentration der Stammwürze einen starken Einfluß aus.

Ein großer Helfer in den Kriegsnöten war der Hopfen, besonders für die hellen Biere, die ja bekanntlich viel empfindlicher sind als die dunklen. Verfasser unterscheidet eigentlich nur zwei Typen von Bieren, Malzbiere und Hopfenbiere, deren wichtigste Vertreter das Münchener und das Pilsener Bier sind. Für die Entwicklung dieser beiden Biersorten waren in erster Linie die Gersten- und Wasserverhältnisse grundlegend. Die erste und unerläßliche Grundbedingung für die Herstellung eines feinen, typischen, hellen Hopfenbieres ist ein ganz weiches Wasser. Die Münchener vertragen dagegen ohne Schaden eine ziemlich bedeutende Karbonathärte. Gipsgehalt im Wasser ist auf jeden Fall schädlich.

Die dem Braugewerbe durch den Krieg gestellten Aufgaben waren sehr schwierig zu lösen, die Erfolge sind im Hinblick darauf, daß die selbständige Auswahl von Gerste und Malz nicht möglich war, befriedigend. Dadurch wurde ein planmäßiges Arbeiten außerordentlich erschwert. Hauptforderung war, den Mälzungsschwand nach Möglichkeit einzuschränken und im Sudhaus die größtmögliche Ausbeute zu erzielen. Zur Erzielung dieser Ausbeute ist aber ein gut eingerichtetes Sudhaus Hauptbedingung. Im Mittelpunkt des modernen und allen Zwecken voll entsprechenden Sudhauses steht das Maischefilter, dem Windisch seit seinen frühesten Zeiten das Wort geredet hat. Als dessen Vorzüge zählt Verfasser auf: 1. das Maischefilter macht unabhängig von der Mälzerei und gestattet die Verarbeitung jeden Malzes; 2. das Maischefilter arbeitet sicherer und schneller als der Läuterbottich, es erspart dadurch Zeit, macht das Sudhaus leistungsfähiger und gewinnt dadurch einen hervorragenden Einfluß auf die Dampfökonomie; 3. das Maischefilter arbeitet mit weniger Anschwänzwasser bei höchster Ausbeute. Er erläutert diese Leitsätze eingehend. Die seinerzeit von Schifferer

aufgezählten Nachteile des Maischefilters gelten für die neuen Konstruktionen nicht mehr oder doch nur in stark verringertem Grade. Die früher vielfach zutage tretende Abneigung gegen das Maischefilter ist jedenfalls nicht mehr berechtigt. Windisch bringt zahlenmäßige Belege dafür, daß eine neuzeitliche Sudhausanlage mit einem Maischefilter wesentlich rentabler arbeitet als das alte Sudhaus. Zur Erzielung der vollen Leistung dieses Apparates ist jedoch eine tadellos arbeitende Sechswalzenschrotmühle nötig. Auch nach dem Krieg wird sparsames und rationelles Arbeiten für die Brauereien Hauptbedingung sein; bei Neubauten wird daher die Aufstellung einer Maischefilteranlage das gegebene sein.

II. Wissenschaftlicher Teil. Eine ihrer Wichtigkeit nach an erster Stelle stehende Frage für die Brauerei ist die Frage der Azidität, oder wissenschaftlicher ausgedrückt, die Frage der Wasserstoffionenkonzentration. Alle Vorgänge in der Brauerei lassen sich auf zwei Generalnenner zurückühren: Lösung und Ausscheidung. Als wirklicher Säuregrad oder wirkliche Azidität kommt nur die dissoziierte Säure, mit andern Worten die Wasserstoffionenkonzentration in Betracht. Sie ist bestimmend für die Geschwindigkeit und den Grad der Enzymtätigkeit, ebenso wie für die Ausscheidungsvorgänge in der Hitze und in der Kälte. Sörensen hat ihren Einfluß auf die Vollmundigkeit des Bieres, Emslander den Einfluß auf die Eiweißkrankheiten des Bieres nachgewiesen. Alles Alkalische, d. h. alles, was Azidität vernichtet, ist nachteilig. Unter diesem Gesichtswinkel ist auch die Brauwasserfrage insbesondere mit Bezug auf den Gehalt eines Brauwassers an Karbonaten zu beurteilen. Die Karbonate vernichten zwar gleichermaßen Säure, sie sind aber nicht in gleichem Grade schädlich, sondern in verschiedenem Maße. Verfasser hat mit seinen Mitarbeitern über die Schädlichkeit der einzelnen Karbonate Versuche angestellt. Die Würzesalze, die mit den Karbonaten in Wechselwirkung treten, sind die Phosphate und zwar in erster Linie die primären oder sauren Phosphate. Je nach der Art der Umsetzung wird die Azidität und auch die Wasserstoffionenkonzentration erniedrigt oder erhöht. Das Magnesiumphosphat ist gegenüber dem kohlensauren Kalk ein stärkerer Säurevernichter und dementsprechend schädlicher. Am gefürchtetsten ist aber die Soda im Brauwasser, die lauter lösliche, also in der Würze verbleibende, alkalische, sekundäre Phosphate liefert. Was die Rolle der Erdalkalisulfate Gips (schwefelsaurer Kalk) und Bittersalz (schwefelsaure Magnesia) im Brauwasser betrifft, so ist letzteres nicht beliebt, während man den Gips unter Umständen als vorteilhaft ansieht, was sich in dem vielfach geübten Gipsen des Wassers zeigt. Die günstige Wirkung des Gipses beruht darauf, daß er das alkalische, sekundäre Kaliumphosphat in das günstige, saure, primäre Kaliumphospat überführt und so die Alkalität erniedrigt. Der Gips geht dabei über in Kaliumsulfat. Die Umsetzung erfolgt jedoch im allgemeinen nicht restlos nach Art der theoretischen Glei-

chungen, es bleibt wohl stets noch Gips im Bier unzersetzt zurück. Beide Sulfate jedoch verbessern keinesfalls den Geschmack des Bieres. Das ist zweifellos ein Nachteil des Gipsens, wie auch ein Nachteil dieser Art der Bekämpfung der Karbonate darin besteht, daß stets Azidität verloren geht und zwar auf Kosten der wertvollen Phosphorsalze. Was die Magnesiasalze betrifft, so wirken sie alle alkalitätsbildend oder -erhaltend und sind infolgedessen mehr oder weniger als Schädlinge anzusehen und zu bekämpfen. Neben den mineralischen spielen auch die organischen Salze in der Würze bei der Umsetzung der Brauwassersalze mit den Würzesalzen eine wesentliche Rolle. Diese organischen Salze finden sich vielleicht schon in der Gerste vor, bilden sich aber jedenfalls beim Mälzen in nicht unbeträchtlicher Menge und geben dann beim Maischen und Würzekochen zu Umsetzungen Veranlassung. Unter den in Frage stehenden organischen Säuren ist in erster Linie die Milchsäure zu erwähnen. Verfasser hat insbesondere deren Salze, die Laktate, studiert und gefunden, daß diese in erster Linie auf die Phosphate der Würze einwirken. Außerdem setzen sie sich natürlich auch mit den Salzen des Brauwassers um. Die auf diesem Gebiet vom Verfasser durchgeführten Studien haben ihn im Laufe der Zeit zu der Erkenntnis geführt, daß die Brauwasserfrage gewissermaßen zu einer Unterfrage der großen Mineralsalzfrage überhaupt geworden ist. Neben den Salzen des Wassers müssen aber auch die Mineralsalze der Gerste und des Malzes mehr beachtet werden und dürfen nicht mehr hinter der Eiweißfrage, die bisher alles beherrschte, zurückstehen. Die Salze der Gerste spielen nicht nur als Würzebestandteile in ihrer Beziehung zur Ernährung der Hefe eine Rolle (hauptsächlich das phosphorsaure Kali), sondern auch in ihrem Verhalten beim Mälzen, Maischen, Würzekochen und Kühlen. Wenn man den Kalksalzen des Wassers — außer dem Karbonat — gewisse günstige Wirkungen in bezug auf die Azidität zuschreibt, den Magnesiaverbindungen aber im allgemeinen weniger günstige oder gar schädliche, so wird dies wohl in erhöhtem Maße auch für die Salze der Gerste gelten, da deren Mengen in letzterer verhältnismäßig bedeutender sind. Verfasser hält kalkreichere Gersten für vorteilhafter als magnesiareiche. Wenn diese Annahme durch geplante Versuche bestätigt wird, so könnte man vielleicht daran denken, den Kalkgehalt der Braugersten durch geeignete Düngungsmaßnahmen zu erhöhen. Die Zusammensetzung des Gerstenkorns muß unter zwei Gesichtspunkten beurteilt werden, einmal vom natürlichen Standpunkt als Erhalter der Art und weiter vom Standpunkt der Eignung als Brauware aus. Neben den Salzen der Gerste ist auch die Rolle des Gersteneiweißes und besonders die des Eiweißschwefels wichtig. Auf die Enzymbildung haben bekanntlich gewisse Säuren einen Einfluß; diese Erkenntnis wird ja bei der Darstellung künstlicher Diastase benutzt. Bei der Überführung der Gerste in Malz, die ja hauptsächlich weiter nichts ist als die Produktion einer genügend großen

Menge von Enzymen, kommt nach Ansicht des Verfassers in erster Linie Schwefelsäure in Betracht, die durch Oxydation des Eiweißschwefels beim Mälzungsprozeß entsteht. Da man nun wohl annehmen kann, daß die Menge des vorhandenen Schwefels der vorhandenen Eiweißmenge entspricht, so ist ein Malz um so enzymatischer, je eiweißreicher die Gerste ist. Möglicherweise ist der geringe Gehalt an eigentlichem, also schwefelhaltigem Eiweiß auch die Ursache der in manchen Jahren auftretenden Erscheinungen mangelhaften Lösungsvermögens und schlechter Gärungserscheinungen. Solche Gersten sind dann als schlechte Brauware zu bezeichnen. Wie bereits bemerkt, oxydiert sich der Schwefel des Eiweißes zu Schwefelsäure, die natürlich ihrerseits nicht als solche fortbesteht, sondern mit den Salzen des Gerstenkornes Verbindungen und Umsetzungen eingeht. Diese Fragen harren noch der endgültigen Klärung; man erkennt jedoch schon auf Grund der bisher vorliegenden Erkenntnisse, daß es nicht genügt, sich nur mit dem Gesamteiweiß zu beschäftigen, daß man sich vielmehr bemühen muß, den Gehalt der Gersten und Malze an physiologischem Reserveeiweiß zu bestimmen und dieses in seine Komponenten zu zerlegen. Zur Lösung aller vom Verfasser angeschnittenen Fragen bedarf es einträchtiger und zielbewußter Arbeit aller Kräfte. R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die maltatische Spaltkraft der Hefen, in Abhängigkeit von Rasseneigenart und Ernährung. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 149.

Verwendungszweck und Rassenart müssen aufeinander eingestellt werden, wenn der Erfolg nicht ausbleiben soll. Zur Bereitung obergäriger Lagerbiere eignet sich zum Beispiel nicht die gewöhnlich rasch vergärende, schnell auftreibende Süßbierhefe, da diese nicht fähig ist, den Anforderungen in bezug auf Gärwirkung zu entsprechen. Die Hefe ändert sich nicht ohne weiteres in ihren Eigenschaften, sondern behält sie manchmal hartnäckig bei; der Süßbierhefe kommt ausgesprochene schwache Vergärung und geringe Maltosespaltkraft zu. Hochvergärend und zur Herstellung obergäriger Lagerbiere geeignet sind Hefen, die zu diesem Zweck im Betrieb schon seit Jahren verwendet werden. Derartige Hefen zeichnen sich auch, wie Versuche der Verfasser erkennen ließen, durch starke maltatische Spaltkraft aus, die sie auch bei Verpflanzung in einen andern Betrieb nicht verlieren. Äußere Einflüsse können auf die Eigenschaften einer Hefe in bedeutendem Maße einwirken. Verfasser verweisen auf das Beispiel einer Hefe K, die sich im Lauf der Zeit aus einer stark vergärenden Hefe zu einer solchen von höchstens mittlerer Vergärung verwandelte. Durch geeignete Betriebsmaßnahmen, insbesondere Verpflanzung in geeignete Würze kann sie zu hoher Gärleistung angetrieben werden. Verfasser erreichten eine Erhöhung der Vergärung in diesem Fall insbesondere dadurch, daß beim Aufmaischen die Temperatur

von 60—61° C längere Zeit eingehalten wurde, um eine möglichst hohe Zuckerbildung zu erreichen. Der bei der Bottichgärung erzielte Erfolg fand Bestätigung bei der Prüfung im Laboratorium in der Höhe der Maltosespaltkraft. — Neben der Rasse hat die Zusammensetzung der Würze einen der wesentlichsten Einflüsse auf die Höhe der Vergärung. Maßgebend ist dabei sowohl der Gehalt und die Art der Eiweißstoffe, als auch das Verhältnis zwischen Zucker und Dextrin neben dem Gehalt und der Art von Mineralstoffen. Bei nicht genügender oder ungeeigneter Ernährung leidet auch die Maltosespaltkraft der Hefe und führt zu Gärträgheit. Diese in der Praxis oft beobachtete Erscheinung wird man erfolgreich dadurch verhüten bezw. beseitigen können, wenn man bei der Herstellung der Würze vor allem auf Bildung möglichst großer Mengen von Zucker bei niedrigem Eiweißgehalt — unter Verwendung von gut gelöstem, eiweißarmem Malz — hinarbeitet. R. Heuß.

Windisch, W. Über die Kellerarbeit bei der Herstellung von schwachen und ganz schwachen Bieren. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917.

Verfasser weist darauf hin, daß es schon jetzt einwandfrei feststeht, daß wir in der Lage sind, untergärige 3proz. Biere von guter Beschaffenheit herzustellen. Die Kellerarbeit muß zur obersten Richtschnur nehmen: genügend hohe Vergärung und reichliche Kohlensäureansammlung im Bier. Die Gewinnung von Saathefe spielt eine besondere Rolle. Wo nur die ganz leichten Biere gebraut werden, müssen beispielsweise zur Gewinnung von Anstellhefe stärkere, etwa 6proz. Biere gebraut, diese auf dem Bottich möglichst hoch vergoren und beim Schlauchen mit dünnerem Kräusenbier verschnitten werden. Da die Hefen aus den schwächeren Würzen schon an sich nicht besonders lebenskräftig sind, darf man mit dem Waschen nicht zu weit gehen. Teilweise stellt man zur Ausschaltung der auf den Markt gekommenen, teilweise recht üblen „Bierersatze" auch $1^1/_2$—1proz. Biere her, am besten wohl durch Verschneiden stärkerer Sude mit Hopfenwasser und Karbonisieren des Gemisches beim Abfüllen. Das Gemisch wird zweckmäßig längere Zeit gelagert, bis sich die beim Mischen entstandene Gerbstoff-Eiweißverbindung abgesetzt hat. Farbe kann man durch Mitverwendung von etwas Farbmalz oder Couleur nach Wunsch erzielen. R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die verschiedene Maltosespaltkraft der Hefen. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 157.

In den Bierwürzen findet die Zymase gewissermaßen mundgerechten Zucker von vornherein nur in geringen Mengen vor. Sie kann ohne vorhergehende Hilfe anderer Enzyme nur Monosen, nicht aber Invertzucker und Maltose spalten. Die Hefenarten sind an Zymase nicht gleich reich. Hefen aus Münchener Brauereien geben nach Buchner sehr zymasereiche Säfte,

obwohl sie schwachvergärender Art sind. Dies liegt wohl daran, daß sie infolge des großen Gehaltes an Eiweiß der aus langgewachsenen Malzen hergestellten Würzen selbst sehr eiweiß- und demzufolge auch enzymreich sind. Trotz des hohen Gehaltes an Zymase vergären diese Hefen den Zucker in der Würze nur sehr unvollkommen und lassen am Ende der Hauptgärung erhebliche Mengen Maltose unzersetzt: der Betätigung der Zymase stellen sich also offenbar gewisse Umstände hindernd in den Weg. Das Wirken der Zymase ist eng mit dem der Maltase verbunden. Die Frage ist nun die, ob Hemmungen, die auf eines der beiden Enzyme wirken, gleichzeitig und in gleichem Maße auch auf das andere wirken. Durch gewaltsame Eingriffe in die Hefezelle ist es möglich gemacht, die Zymase mit ihrer Tätigkeit völlig auszuschalten; dadurch ist es möglich, die Maltase in ihrer Energieentwicklung zu studieren und die einzelnen Hefen auf die Stärke ihrer Spaltfähigkeit zu untersuchen. Verfasser haben unter Berücksichtigung bezw. Ausschaltung aller in Frage kommenden Faktoren eine Reihe von Hefen untersucht. Eine als besonders gärungsenergisch bekannte Hefe, die Hefe U, war am maltasestärksten und am kräftigsten, in letzter Reihe stand die obergärige Süßbierhefe. Eine andere der untersuchten Hefen war von Hause aus mit starker Maltosespaltkraft ausgestattet, gärte jedoch nur sehr schwach, sie hat sich durch die besonderen Verhältnisse im Betrieb diese Gärtätigkeit angewöhnt. Die Versuche ließen erkennen, daß der Gärverlauf im praktischen Betrieb stark von der Anlage der Hefenrasse in ihrer Maltosespaltkraft abhängt. Ist diese in ausreichendem Maße vorhanden, so ist die Möglichkeit hoher Vergärung gegeben, wo diese fehlt oder infolge von Entartung gesunken ist, wird als Folge davon schwache Vergärung auftreten.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, A. Die verschiedene Maltosespaltkraft der Hefen. Experimenteller Teil. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 165.

Für die Untersuchungen der Verfasser kam es vor allem darauf an, die Wirksamkeit der Zymase auszuschalten, um diejenige der Maltase richtig würdigen zu können. Dies geschah durch Zugabe von Toluol und zwar bedurfte es einer Menge von 8 Vol.-Prozent, bis alle Gärung unterdrückt war. Dabei zeigte sich, daß die Zymase verschiedener Hefen bei allmählichem Toluolzusatz in verschiedenem Maße geschädigt wurde. So wurde beispielsweise die schwächer vergärende M-Hefe dadurch weniger in Mitleidenschaft gezogen, als die gärkräftige U-Hefe. Verfasser gehen auf die Beantwortung der Frage nach den Ursachen dieser zunächst nicht zu erwartenden Erscheinung vorläufig nicht näher ein, sondern geben zunächst den Gang der Untersuchung bei der Bestimmung der Maltosespaltkraft von Hefen bekannt.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Goslich, Chr. Die Hefe in den leichten Würzen. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 173.

1. Vermehrung. Wenn Würzen an Extraktstoffen immer ärmer werden, dann ist anzunehmen, daß mit zunehmender Verminderung der der Assimilation zugänglichen Nährwerte die Fortpflanzung eine mehr oder minder belangreiche Beeinträchtigung erfahren muß. Diese Wechselbeziehung konnte bei der Herabsetzung des Stammwürzegehaltes von 11 auf 7% ziemlich augenfällig beobachtet werden. Die Ernte an Hefe nahm auffällig ab, die Abnahme war aber doch nicht derartig, daß Besorgnisse wegen der Unzulänglichkeit der Hefenernte gerechtfertigt erschienen, man erhielt noch immer genügende Mengen von Saathefe. Über die Vermehrung von Hefe können verschiedene Methoden Aufschluß geben. Man kann z. B. die Aussaat durch Bestimmung nach Maß und Gewicht ermitteln und sie in Einklang mit den in gleicher Weise festgestellten Erntemengen bringen. Außerdem läßt sich die Vermehrung durch Bestimmung der Zellenzahl, die in einem bestimmten Raumteil unmittelbar nach dem Anstellen und im Zustand der Hochkräusen vorhanden ist, feststellen. Verfasser erhielten bei Versuchen mit der Zählmethode in 7proz. Bieren eine 3 bis 3,7fache Vermehrung auf Grund der Wägung der abgepreßten Aussaat und Ernte eine 2,7 bis 2,8fache. Gegenüber den stärkeren Würzen der früheren Jahre stellte man eine Minderung an Hefe um ein Drittel fest.

2. Bewegung der Gärung und Hefezellen. Mit der Abnahme des Gehalts an Zucker wird zugleich auch die Gelegenheit für die Energiebetätigung der Hefe schlechter, der Auftrieb läßt nach. Dies gilt auch für die 7proz. Biere, indes ist hier der Zuckergehalt noch ausreichend genug, um der Hefe als so kräftige Energiequelle zu dienen, daß sie befähigt wird aufzutreiben. Die Energiebetätigung und die Auftriebskraft ist jedoch naturgemäß nicht so stark und nicht so anhaltend wie bei stärkeren Würzen, das Gärungsbild wird durch den geringeren Gehalt an wichtigen Nährstoffen schon wesentlich anders. Die Hefe setzt sich früher ab und bietet dem Bier nicht dieselbe Schutzkraft wie sonst. Diesen Mangel muß man durch ausreichende Gegenmittel auszugleichen suchen, es sind das: starke Hefengabe, kräftige Lüftung und hohe Vergärung in Gemeinsamkeit mit stärkster Hopfung der Würze. R. Heuß.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Maltatische Spaltkraft der Hefen im Bier, gebunden an die Gegenwart von Sauerstoff. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 189.

Aus den vorhergehenden Mitteilungen der Verfasser ging schon deutlich hervor, daß die den verschiedenen Heferassen oder Stämmen innewohnende Spaltkraft der Maltase in reiner Maltoselösung und in durch peinliche Filtration hefenfrei gemachtem, zum Teil mit Hefe pasteurisiertem Bier, wobei

so viel Maltose zugegeben wurde, bis der Prozentgehalt davon dem der wässerigen Lösung entsprach, verschieden ist. Versuche zeigten, daß die Gegenwart von Sauerstoff auf die Tätigkeit der Maltase von ganz besonderem Einfluß ist. Aus den Versuchen sind auch interessante Schlüsse auf die Vorgänge im Lagerfaß zu ziehen. Zur Durchführung einer richtigen Nachgärung ist jedenfalls die Anwesenheit einer ausreichenden Menge von Sauerstoff neben anderen Faktoren sehr wesentlich. Dieser wird beim Einschlauchen des Bottichbieres zugeführt, auch andere Mittel, wie Spänen, mehrmaliges Überschlauchen und Käppelnlassen wirken ebenso.

R. Heuß.

Schönfeld, F. und Goslich, Chr. Die Hefe in dünnen Würzen (Wachstum und Gärführung). Wochenschr. f. Brauerei **34**, 1917, S. 205.

Bei 11 prozentigen Würzen gab man durchschnittlich auf 1 hl etwa 0,5 l, entsprechend 0,26 kg gepreßter Hefe. Diese Hefengabe wurde an der Berliner Hochschulbrauerei auch bei 7 proz. Würzen mit Erfolg beibehalten, ebenso anfänglich bei 6 proz. Bei diesen Würzen ging man dann später auf 0,33 l. entsprechend 0,13 kg gepreßter Hefe zurück, da die stärkere Hefengabe die Wachstumsperiode derartig beschleunigte und die Biere auf dem Bottich so schnell reif wurden, daß es nicht immer möglich war, sie rechtzeitig und in dem erwünschten Zustand zu schlauchen. Diese Gabe behielt man mit Erfolg bei, die Hopfenmenge betrug 2 Pfund auf den Zentner Malz. Das Gärungsbild war befriedigend, man beobachtete gute Bruchbildung, sowie gutes und festes Absitzen der Hefe. Die gleiche Hefengabe hat sich auch für 3 proz. Würzen bewährt, ebenso für 6 proz. Würzen bei Verwendung von Oberhefe. Neben der Auswahl geeigneter Stellhefengabe ist auch die Wahl geeigneter Anstell- und Gärtemperatur und kräftiger Lüftung notwendige Voraussetzung für einen den Verhältnissen entsprechenden Gärungsverlauf. Bei einer Gärkellertemperatur von 5—6° C ist bei Benutzung untergäriger Hefe eine Anstelltemperatur von 10° C und bei obergäriger Hefe eine solche von 15° C. sehr passend. Weiter erforderlich ist auch eine Vorbehandlung der Hefe durch Vorstellen in starker Würze, die zweckmäßigerweise auf 10 bis 12% Balling eingestellt wird. Diese Vorbehandlung muß mehrere Stunden dauern, um die Hefe ausgiebig zum Sprossen und zur Aufnahme von Nährstoffen anzuregen. So geführte Gärungen lieferten Hefenernten, deren Erträge immer wieder ausreichten, um gleiche Mengen frischer Würze eines folgenden Sudes anzustellen. Bei den 6 proz. Würzen beobachtete man eine Vermehrung um das drei- bis vierfache, bei den 3 proz. um das anderthalb- bis zweifache der Aussaat. Der Ausfall der Hefenernte sinkt mit dem Fallen des Extraktgehaltes. Bei den 3 proz. Würzen gelangt sie schon auf einen bedenklichen Tiefstand. In 11 proz. Würze betrug die Hefenernte 1,1 kg gepreßter Hefe, bezogen auf 1 hl Bier, in 6 proz. 0,5 kg, und in 3 proz.

0,2 kg. Eine Entartung der Hefe konnte bisher in den 6proz. Würzen nicht bemerkt werden; diese wird sich auch wohl bei entsprechender Behandlung vermeiden lassen. Bei 3proz. Würzen wird jedoch mit einer Entartung wohl gerechnet werden müssen, man wird daher mit Hilfe der Reinzucht rechtzeitig für Ersatz der unbrauchbar gewordenen Hefe sorgen müssen.

R. Heuß.

Windisch, K. Die Bierbereitung im Krieg (Dünnbier und Ersatzgetränke). Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 213 und 224.

Unter dem Einfluß des Krieges ging die den Brauereien zur Verfügung stehende Gersten- bezw. Malzmenge stetig zurück. Da der Bierbedarf, namentlich für die Feldtruppen, dauernd ein großer war, blieb zur Streckung der kleinen Malzvorräte nichts anderes übrig, als die Stammwürze des Bieres entsprechend herabzusetzen, eine Maßnahme, zu der auch die verschiedenen Generalkommandos durch entsprechende Verordnungen Stellung genommen haben. Neben dem so entstehenden Dünnbier kamen aber auch sogenannte Bierersatzgetränke auf, denen Verfasser gleichfalls einige Betrachtungen widmet. Bezüglich der Herstellung von Dünnbier geht Windisch zunächst von dem durch den technischen Beirat des Deutschen Brauerbundes über die Herstellung leichterer Biere ausgearbeiteten Merkblatt aus und bespricht sodann eingehend die Arbeit im Sudhaus und die Bottich- und Lagergärung. Besonderes Augenmerk ist bei der Herstellung derartig leichter Biere der Hefegewinnung zu schenken. Was die Herstellung von Ersatzgetränken betrifft, so verwirft Verfasser die reinen Kunstprodukte ohne Verwendung von Malz. Lieber — namentlich mit Rücksicht auf die nach dem Kriege zu erwartende Konkurrenz — wäre es ihm, wenn die Herstellung eines wenn auch noch so dünnen Bieres aus Malz und Hopfen ohne künstliche Zusätze in die Wege geleitet würde, um der allzu großen Vermehrung dieser Kunstprodukte einigermaßen zu steuern. R. Heuß.

Heintz, L. Über die künstliche Würzekühlung im geschlossenen Kühlschiff und die Entfernung des Glutens. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 221 u. 229.

Die Veranlassung und Grundlage zu den Untersuchungen über die künstliche Würzekühlung im geschlossenen Kühlschiff und die Entfernung des Glutens bildete in der Hauptsache die bekannte klärende Eigenschaft des Tannins. Die praktische Ausführung der Würzekühlung mußte allerdings infolge des Krieges vorläufig aufgeschoben werden, doch teilt Verfasser die Ergebnisse zahlreicher Laboratoriumsuntersuchungen und die daraus für die Praxis hervorgehenden Nutzanwendungen unter Bezugnahme auf die Arbeiten anderer Forscher auf diesem Gebiet wie Brown, Hayduck, Emslander usw. ausführlich mit. Brown kam bei seinen Studien, die Gerbstoff-

eiweißverbindungen oder das „Gluten" zum Ausflocken zu bringen und dadurch aus der Würze zu entfernen, im wesentlichen zu dem Schluß, daß die mechanische Bewegung einer Würze während der Kühlung zur Erlangung eines guten Bruches wesentlich ist. Die Versuche bezogen sich allerdings auf die viel stärkeren englischen Würzen, sie treffen für deutsche Verhältnisse nicht ohne weiteres zu. Ebenfalls auf englische Verhältnisse bezieht sich ein im Jahre 1914 veröffentlichtes, verbessertes Brauverfahren von Ling und Wooldrige, bei dem die Abkühlung der Würze unter vermindertem Druck erfolgt. Verfasser kommt zu dem Ergebnis, daß unsere deutschen Würzen zur Klärung außer der Bewegung noch eine andere Substanz brauchen, die durch ihr Flockungsvermögen das Gluten mitreißt. Diese Substanz ist der grobe Trub. Von dessen klärender Eigenschaft kann man weitgehenden Gebrauch machen, indem die Würze unter Bewegung mit diesem Trub zusammen bis auf Anstelltemperatur oder darunter abgekühlt wird mit nachfolgendem Absetzen. Diese Abkühlung kann steril im Kühlschiff durchgeführt werden, braucht wenig Aufsicht. die Berieselungsapparate fallen fort, (sind ev. im Kühlschiff zu verwenden); hierdurch, wie durch die Verkleinerung des Kühlschiffs, wird Raum gespart; die in der Würze aufgespeicherte Wärmemenge wird fast ganz wiedergewonnen. Dem stehen die Kosten der Anlage (Leitungen, Kühlsysteme, größere Trubfilter), Mehrarbeit zum Reinigen des Schiffs, Kraftverbrauch gegenüber. Die Sudhausausbeute wird, da nur sehr wenig im Kühlschiff verdampft — man also weniger Würze zum Kochen in die Bierpfanne laufen lassen kann — vielleicht etwas geringer werden, dieser Verlust kommt aber bei modernen Maischefilteranlagen überhaupt nicht in Betracht. R. Heuß.

Bokorny, Th. Notizen über Hefevermehrung. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 269.

I. Verschiedene Kohlenstoffquellen. Für die Brauchbarkeit der verschiedenen Kohlehydrate zur Ernährung von Hefe ist die Art der Hefe von großer Bedeutung. Verschiedene Rassen verhalten sich verschieden. Soweit bis jetzt bekannt, können von den Hexosen nur drei Aldosen, nämlich d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose und eine Ketose, die d-Fruktose vergoren werden. Von den Biosen ist besonders Rohrzucker und Maltose als gärungsfähig bekannt. Von den Polyosen werden Dextrine durch eine große Anzahl von Hefen angegriffen, allerdings meist von obergärigen oder wilden Arten. Ähnliche Unterschiede wie bei der Vergärung zeigen sich auch bei der Assimilation der Zuckerarten, ohne daß jedoch beide Vorgänge parallel zu gehen brauchen. Verallgemeinerungen sind daher nicht zulässig, wie Verfasser an Formaldehyd, Methylalkohol usw. zeigt.

II. Reizstoffe. Alle Giftstoffe dürften bei einer gewissen geringeren, aber bei den einzelnen verschiedenen Konzentration fördernd auf das Wachs-

tum wirken. Bei Versuchen über die Beeinflussung der Vermehrung ist es wichtig, das günstigste Mengenverhältnis zwischen Hefe und Zucker zu finden, bei dem die größte Vermehrung der Trockensubstanz erfolgt. Die Art des Zuckers ist wichtig, ebenso die Temperatur und die Beschaffenheit der Stickstoffquelle. Bei der Herstellung der Dünnbiere in der untergärigen Brauerei gestaltet sich die Hefevermehrung sehr ungünstig. Die Ursache liegt nicht nur in der geringen Malzmenge, es kommt vielmehr wesentlich auf das Verhältnis „Aussaathefe zu Zuckermenge" an. Genaue Untersuchungen darüber wären für die Bierbrauerei gegenwärtig von großer Bedeutung.

R. Heuß.

Windisch, W. Dünnbier gegen „Bierersatz". Wochenschr. f. Brauerei 34. 1917, S. 285.

Verfasser war von Anfang an ein Gegner der sogenannten Bierersatzgetränke und ein Verfechter der Herstellung leichterer Biere neben höherprozentigen Spezialbieren, schon lange ehe die jetzige Malznot kam. Die Verhältnisse haben ihm recht gegeben mit der Einschränkung, daß wir heute die damals ins Auge gefaßten höherprozentigen Biere nicht mehr brauen können, dafür aber mit Rezeptenhandel und Ersatzgetränken vielfach schlechte Erfahrungen gemacht haben. Verfasser bespricht zunächst die bisherigen Erfahrungen bei der Herstellung von Einfachbier und weist besonders auf die Schwierigkeiten der Hefegewinnung hin, die mit dem Sinken des Stammwürzegehalts verbunden waren und zwar in besonders ausgeprägtem Maße bei den Betrieben, die keine Heereslieferung haben und deshalb nicht im Besitz von stärkeren Würzen sind. Beim Arbeiten mit Hopfenwasser zum Verschneiden stärkerer Würzen wurden vielfach, namentlich wenn der Betrieb karbonatreiches Wasser hatte, sehr schlechte Erfahrungen gemacht, Grund genug, diese technische Maßnahme wieder abzuschaffen. Wesentliche Bestandteile der zweckmäßigen Arbeitsweise bei der Herstellung von Dünnbier sind nach Windisch Entkarbonisieren des Wassers und Infusionsverfahren im Sudhaus.

R. Heuß.

Windisch, W. Zur Dünnbierfrage. Wochenschr. f. Brauerei 34, 1917, S. 299 u. 307.

Verfasser hat auf obenstehende Veröffentlichung eine Reihe von Zuschriften erhalten, die sich ohne Ausnahme gegenüber dem Bierersatz auf einen ablehnenden Standpunkt stellen, nachdem sie die entsprechenden Erfahrungen gemacht haben. Bezüglich der Sudhausarbeit schlägt Verfasser das Vormaisch-Eiweißrastverfahren und zwar ein reines Infusionsverfahren vor. Dieses bietet Aussicht auf einfache Arbeitsweise mit Zeit- und Kohlenersparnis, möglichst hohe Ausbeute, hohen Zuckergehalt der Würze, damit hohe Vergärbarkeit und Vergärung, kräftige Ausscheidung der Hopfenharze,

hohen Gehalt der Würze an gerinnbaren und mit Hopfengerbstoff unlösliche Verbindungen eingehenden Eiweißverbindungen, weitgehende Unschädlichmachung des in Überfluß vorhandenen Hopfengerbstoffs, kräftige Ausscheidung der Gerbstoff-Eiweißverbindungen und damit Vermeidung der bisher beklagten Trübungen. Besonders wichtig ist auch, daß man bei der Dünnbierherstellung karbonatarmes Wasser hat. Vielfach wird künstliches Entkarbonisieren in Frage kommen. Windisch deutet an, daß die Ausarbeitung eines Verfahrens zur kalten Entkarbonisierung des Wassers vor dem Abschluß stehe und befaßt sich im weiteren Verlaufe seiner Ausführungen noch mit einer Reihe praktischer Einzelheiten. R. Heuß.

Mansfeld, R. Weitere Vereinfachung des Herführens von Reinzuchthefe in der Kriegszeit. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 115.

Das Malzkontingent im Deutschen Reich ist gegenwärtig auf $^1/_5$ der Friedensmenge beschränkt, der Stammwürzegehalt entsprechend herabgesetzt. Schwache Biere setzen aber große Geschmacksreinheit voraus, sie müssen daher in biologischer Hinsicht tadellos beschaffen sein und mit einer untadeligen Anstellhefe vergoren werden. Der Bezug reiner Anstellhefen von fremden Brauereien ist jedoch gegenwärtig äußerst erschwert: die Herabsetzung der Produktion wie auch die Erniedrigung der Stammwürzen läßt viel weniger Hefe übrig als früher, außerdem wird aller Überschuß auf Trockenhefe verarbeitet. Der Brauer wird sich daher zweckmäßig selbst eine reine Anstellhefe durch Herführen verschaffen. Dies geschieht auf einfache Weise mit Hilfe einiger Eimer aus verzinktem Eisenblech mit übergreifendem Deckel und einem Nutzinhalt von 20 l. Die Innenfläche wird mit Kühlschifflack und einige Male mit Hefe oder Geläger eingestrichen, damit sich Bierstein absetzt und kein Zink löst. 8 derartige Eimer genügen zum Herführen einer von einer Station bezogenen Reinzuchthefe und zum Anstellen von 12—14 hl Bottichwürze. R. Heuß.

Fries, G. Über Dünnbier. Mitteilungen d. wissenschaftlichen Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 185 u. 193.

Zur Sicherstellung des Bierbedarfs von Heer und Bevölkerung wurde vom Generalkommando bestimmt, daß Vollbier nur mehr mit einem Stammwürzegehalt von 6% und Dünnbier mit einem solchen von 3,5—4% hergestellt werden darf. Dünnbier, sonst wohl auch Nachbier oder Scheps genannt, ist durch die oben angeführte Verordnung des Generalkommandos jetzt in den Vordergrund des Interesses gerückt, es muß zur Befriedigung des Publikums in entsprechender Qualität hergestellt werden. Verfasser gibt in seinen Ausführungen seine Erfahrungen über die Bereitung von Dünnbier wieder, die teils auf eigener Praxis, teils auf Beobachtungen in verschiedenen Betrieben beruhen. R. Heuß.

Fries, G. Über Bierersatzgetränke. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 202.

Die zunehmende Knappheit an Bier brachte es mit sich, daß seit einiger Zeit Vorschriften zur Herstellung von Bierersatzgetränken in erhöhtem Maße in der Fachpresse auftauchen. Sie können eingeteilt werden in solche mit Limonadencharakter und solche mit Biercharakter. Biercharakter können nur jene Ersatzgetränke zeigen, die tatsächlich aus Malz und Hopfen hergestellt sind und eine Hefegärung durchgemacht haben. Die Stammwürze der vom Verfasser untersuchten Getränke schwankte außerordentlich, oft lag sie unter 1%. Entsprechend verschieden waren natürlich auch die Werte für Extrakt und Alkohol. Zwei Fabrikate waren trüb, bei einem war die Trübung durch wilde Hefen veranlaßt, die dem Getränk einen unreinen und unangenehmen Geschmack verliehen. Sonst war der Geschmack im allgemeinen befriedigend, namentlich wenn die Getränke ohne Saccharin hergestellt waren. Mousseux und Schaumhaltigkeit waren fast durchweg gut, wichtig ist die richtige Karbonisierung derartiger Getränke. Im allgemeinen munden sie nur dann, wenn sie frisch ausgeschenkt werden. Die Haltbarkeit der untersuchten Proben war — namentlich bei starker Hopfengabe — befriedigend.

R. Heuß.

Will, H. Das mikroskopische Bild der Hefen von Kriegsbieren und die Schlußfolgerungen aus jenem. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 209 u. 217.

Die Herstellung von Dünnbier dreht sich im wesentlichen um die Frage der Möglichkeit der Erhaltung von Hefe. Verfasser stellte mit Hilfe des Mikroskops den Ernährungszustand der Hefenzellen in 6- und höherprozentigen Würzen, sowie in Dünnbierwürzen fest. Es leitete ihn dabei die Überzeugung, daß die mikroskopische Untersuchung über die Ursache der Abnahme der Vermehrung in geringprozentigen Würzen und die Notwendigkeit einer öfteren Stärkung in hochprozentigen ein übersichtlicheres und überzeugenderes Bild gebe, als alle theoretischen Erwägungen. Das mikroskopische Bild der Hefenzellen in geringprozentigen Würzen erscheint gegenüber dem von Hefen aus hochprozentigen wesentlich geändert: der Ernährungszustand, der in dem Aussehen der Zellen deutlich zum Ausdruck kommt, hat sich verschlechtert; er steht im innigsten Zusammenhang mit der Minderung einer völlig befriedigenden Ernährungsmöglichkeit der schwächeren Würzen. Die Untersuchungen zeigten, daß die Hefen aus 6prozentigen Würzen, besonders aber die aus Dünnbierwürzen, zwischendurch einmal durch Führung in hochprozentigen gekräftigt werden. Für letztere ist dies eine zwingende Notwendigkeit, eine fortgesetzte Führung der Hefe nur in Dünnbierwürze erscheint ausgeschlossen, da sie deren gründliche Schädigung zur Folge hätte. Vielfach wurde befürchtet, daß infolge der Herabsetzung des Stammwürze-

gehalts und der damit verbundenen schlechteren Ernährung die bewährten untergärigen Bierhefen renommierter Betriebe allmählich ihre oft in weiten Kreisen geschätzten guten Eigenschaften verlieren und schließlich ganz ausfallen könnten. Diese Befürchtung ist übertrieben und unbegründet. Wo es sich um Reinzuchten handelt, wird — oder sollte sich wenigstens — im Besitz der Brauerei eine Konserve der fraglichen Stämme befinden. Ist die Reinzucht von einer Station bezogen, dann wird sich dort eine Konserve befinden, von der aus der Stamm jederzeit vermehrt werden kann. Im ungünstigsten Falle lasse man von berufener Seite sofort eine Konserve der beliebten Hefenstämme anfertigen; die zur Verfügung stehenden Konservierungsverfahren verbürgen jahrelange Haltbarkeit, so daß der Stamm jederzeit zur Verfügung steht. R. Heuß.

Will, H. Einige Beobachtungen über den Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht. Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **40**, 1917, S. 249.

Über den Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht liegen Mitteilungen in der Fachliteratur im allgemeinen nicht vor, obwohl ein ungünstiger Einfluß von vornherein nicht nur nicht ausgeschlossen, sondern sehr wahrscheinlich ist. Verfasser hat in dieser Richtung Versuche angestellt, die allerdings noch nicht beendigt sind, aber jetzt schon mit aller Deutlichkeit erkennen ließen, daß Schüttelbewegung unter bestimmten Verhältnissen die Haltbarkeit in biologischer Hinsicht wesentlich beeinträchtigen kann.

R. Heuß.

Bericht über die 41. ordentliche Generalversammlung der wissenschaftlichen Station f. Brauerei in München. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **41**, 1917, S. 361.

Technische Mitteilungen und technisch-wissenschaftliche Arbeiten: 1. Beobachtungen aus der Praxis. Von G. Fries. In bezug auf den biologischen Reinheitsgrad waren die Ergebnisse der Kontrollproben fast durchweg zufriedenstellend, die Haltbarkeit der Biere war im allgemeinen recht gut. Die Absatzbildung der Dünnbiere erfolgte in der Regel früher als bei normalen Bieren, hielt sich jedoch meist in sehr mäßigen Grenzen. Nur gespänte Biere setzten reichlicher ab als filtrierte. Auftretende Trübung war meist vorübergehend und in der Regel durch wilde Hefe verursacht, die Gegenwart von Sarcina wurde seltener festgestellt. Schon früher wurde auf die Infektionsgefahr durch moderne Gegendruckabfüllapparate hingewiesen. Diese kann ganz wesentlich verringert werden durch Ableiten des Überlaufbieres und Filtrieren der Rückluft, sowie durch sorgfältige und

entsprechend häufige gründliche Reinigung der gesamten Abfüllanlage. — Die Ausbeuteresultate waren trotz der oft niederen Treberschicht meist gut. — Die Frage der Wiedergewinnung und Verwendung der im Faßgeläger enthaltenen Hefe gewinnt bei der gegenwärtigen Hefeknappheit besondere Bedeutung. Bei sachgemäßer Reinigung des Gelägers fällt schöne weiße Hefe an, die bei Verschneiden mit anderem gutem Zeug und nach Herführung in Vorderwürze wohl verwendbar erscheint.

2. Dünnbier und Bierersatzgetränke. Von G. Fries. Ergänzend zu den schon früher veröffentlichten Erfahrungen sei hier nur erwähnt, daß sich bei Bereitung von Dünnbier ein besonderes Einmaischverfahren gut bewährt hat. Die Hefe wird bei Herstellung von Dünnbier zweckmäßig in Vorderwürze hergeführt, wobei auf häufiges und kräftiges Aufziehen besonders zu achten ist. Die Gärführung ist nach Möglichkeit der bei Herstellung von normalen Bieren angewendeten zu nähern. — Die untersuchten Bierersatzgetränke befriedigten hinsichtlich Geschmack, Schaumhaltigkeit und Mousseux in der Regel. Einer befreundeten Brauerei gelang es mit Erfolg, ein Bierersatzgetränk, das allen Anforderungen entsprach, ohne Karbonisieren herzustellen, ein in Anbetracht der Knappheit an Kohlensäure bemerkenswerter Fortschritt.

3. Das mikroskopische Bild der Hefen von Kriegsbieren und die Schlußfolgerungen aus jenem. Von H. Will. Zur Untersuchung des Ernährungszustandes der Hefe in 6- und höherprozentigen Würzen schien die mikroskopische Prüfung besonders geeignet. Man untersuchte Satzhefe und Absatz aus Jungbier sowohl in 6proz., wie auch in Dünnbierwürzen. Man fand, daß bei einem Extraktgehalt der Würze von $6^0/_0$ die Grenze gezogen ist, bei welcher noch andauernd auf Gewinnung einer einigermaßen befriedigenden Hefe gerechnet werden kann. Die ausschließliche Vermehrung von Hefe in Dünnbierwürze hat deren gründliche Schädigung zur Folge. Die Erhaltung wertvoller Hefenstämme auch über die gegenwärtige schwierige Zeit hinaus ist durch geeignete Konservierungsverfahren gesichert.

4. Über das Verhalten der Bitterstoffe des Hopfens. Von W. Wöllner. Die Träger der antiseptischen und bittermachenden Kraft des Hopfens sind die Harze und zwar besonders das Humulon und Lupulon. Nach Wöllmers Untersuchungen ist der Hauptträger des bitteren Geschmacks das Humulon.

5. Vergleichende Versuche über Gersten- und Malzextraktausbeuten. Von G. Fries. Da die vorhandenen Methoden zur Bestimmung der Gersten- und Malzextraktausbeuten meist keine befriedigenden Werte haben, arbeitete man selbst eine passende Methode aus.

6. Über die Mälzung mit Kohlensäure-Rast. Von G. Fries.

7. Ein neues Würzekochverfahren. Von G. Fries. Das Verfahren bezweckt die Gewinnung einer Würze und damit eines Bieres, das

möglichst reich an kolloidalen Substanzen von entsprechendem Dispersitätsgrad ist. Dadurch erhält man Biere, deren wesentliches Kennzeichen besondere Vollmundigkeit ist, wodurch sie stärker erscheinen, als sie in Wirklichkeit sind.

8. Einfluß von Schüttelbewegung auf die Haltbarkeit des Bieres in biologischer Hinsicht. Von H. Will. Schon frühere Versuche ließen erkennen, daß durch Schüttelbewegung unter Umständen die Haltbarkeit eines Bieres verschlechtert werden kann. Auch bei den neuen Versuchen gewann man wieder den Eindruck, daß bei minder gut haltbaren, also mehr oder weniger mit Bierschädlingen durchsetzten Bieren je nach Art und Stärke der Infektion sowie der Temperatur während der Schüttelbewegung die Haltbarkeit mehr oder weniger herabgesetzt wird.

9. Kriegspeche und deren Rohmaterialien. Von G. Fries. Neben regenerierten Auslaufpechen trifft man in der Kriegszeit noch eine zweite Gruppe von Pechen, die sich auf bituminösen Materialien aufbauen. Die erste Gruppe stellt einen vollwertigen Ersatz der Friedenspeche dar, bei der zweiten Gruppe stört noch in vielen Fällen die hohe Viskosität.

10. Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Metalle. Von H. Will u. F. O. Landblom. In Anlehnung an Versuche von Zikes über die Wirksamkeit des Antiformins gegenüber Metallen und solchen von Heuß über Radaform haben Will und Landtblom die Einwirkung von 1-, 2- und 5prozentigen Lösungen von Flußsäure, Flammon, Montanin und Formalin bei 2—3tägiger Versuchsdauer auf Eisen und Stahl, Kupfer, Zinn, Zink, Aluminium und Messing geprüft und die Einwirkung durch Feststellung der Gewichtsabnahme der Versuchsstücke festgestellt. Formalin in verdünnter Lösung zeigte keinerlei Einwirkung, in unverdünnter (40proz.) Lösung befördert es bei Eisen und Stahl infolge eines Gehalts von 0,4% Ameisensäure die Rostbildung. Eisen und Stahl, sowie auch Aluminium und Zink zeigten sich mehr oder weniger empfindlich gegenüber allen Desinfektionsmitteln, Kupfer, Zinn und Messing dagegen wurden äußerlich sichtbar in keinem Fall angegriffen.

11. Prüfung eines Kriegsfilters mit eisernen lackierten Schalen auf Brauchbarkeit. Von G. Fries. Das frühere Material, aus dem die Schalen für Bierfilter angefertigt wurden, ist nicht mehr zu beschaffen, so daß sich eine Fabrik entschloß, als Kriegsfilter einen Apparat mit eisernen, mit einem Lack überzogenen Schalen herauszubringen. Es handelte sich nun darum, die Widerstandsfähigkeit dieses Lackes gegenüber Bier bezw. 4proz. Alkohol zu prüfen. Die Prüfung fiel negativ aus, der Lack wurde weiß, ließ Rostflecken aufkommen und konnte nicht verhindern, daß das Bier starken Lack- und Eisengeschmack annahm.

Wissenschaftliche Arbeiten. 1. Über eine neue Torula-Art, welche in Jungbier Trübung verursacht. Von H. Will. Im letzten

Jahresbericht wurde über diese Torula eine kurze Mitteilung gemacht, die sich wesentlich mit den Erscheinungen beschäftigte, die für die Praxis von Bedeutung sind. Die jetzige Veröffentlichung macht Mitteilung über die diagnostischen Merkmale dieser Art, die hauptsächlich in zwei Hauptgruppen von Zellformen vorkommt: 1. in langgestreckten schlauchartigen und wurstförmigen Zellen in meist weit ausgebreiteten, aber wenig verzweigten Sproßverbänden, die fest zusammenhalten; 2. in gedrungenen Zellformen, die von den Zellen der ersten Gruppe erzeugt werden und sich durch Sprossung fortpflanzen. Neben der Morphologie der Zellen behandelt Will die Wachstumserscheinungen in Nährflüssigkeiten, die Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden, die Gelatineverflüssigung, das Verhalten gegen Zucker und Alkohol, sowie die Bildung von Farb- und Geruchstoffen. An Zuckern werden vergoren Dextrose, Laevulose, Galaktose, Saccharose, Laktose und Raffinose, dagegen nicht Maltose.

2. Noch einige Mitteilungen über das Vorkommen von lebens- und vermehrungsfähigen Zellen in alten Kulturen von Sproßpilzen. Von H. Will. Die Frage der Konservierung der Betriebshefen erscheint zurzeit besonders vordringlich. Die Station bewahrt ihre Reinzuchtstämme in 10proz. Saccharoselösung, ferner aber auch in hochprozentiger Würze unter kontinuierlicher Auffrischung bis 15° C auf. Beide Verfahren haben sich bewährt, die Saccharosekonserven halten sich durchschnittlich 5—6 Jahre. Bei der Beobachtung der Lebensdauer von Sproßpilzen in Konserven verschiedenster Art waren bisher im wesentlichen nur ober- und untergärige Bierhefen, Weinhefen und andere wilde Hefen in Betracht gezogen worden. Insbesondere fehlten Beobachtungen über Torulaceen in dieser Hinsicht. Will hat diese Lücke nunmehr durch entsprechende Versuche mit Eutorula var. a—d, Eutorula ellipsoidea, Torula gelatinosa und coriicolor, Mycotorula craterica var. a—c, Mycotorula radioplicata var. a—c ausgefüllt und gefunden, daß auch die Widerstandsfähigkeit der Torulaceen in Saccharoselösung verschieden ist.

3. Die maßanalytische Phosphorsäurebestimmung nach der Methode von B. Pfyl und ihre Anwendung im Brauereilaboratorium. Von W. Wöllmer.

4. Physikalisch-chemische Untersuchungen an Würzen und Bieren. Von W. Wöllmer. Von den neueren Methoden der physikalischen Chemie haben besonders die Bestimmung der Leitfähigkeitstitration und die der Wasserstoffionenkonzentrationen Eingang in das Brauereilaboratorium gefunden. Wöllmer hat zahlreiche derartige Bestimmungen an Würzen und Bieren durchgeführt, wobei besonders die geringe Wasserstoffionenkonzentration der Dünnbierwürzen auffiel, die auch durch die Tätigkeit der Hefe bei der Gärung nicht mehr ausgeglichen werden kann.

5. Bestimmung des Salzgehaltes natürlicher Wässer durch Messung ihrer elektrischen Leitfähigkeit. Von W. Wöllmer.

6. Die polarimetrische Stadientitration der Säure in Würze und Bier. Von W. Wöllmer. R. Heuß.

Koudelka, V. Erfahrungen mit verschiedenen Malzersatzmitteln im Laboratorium und in der Praxis. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation 45, 1917, S. 121 u. 131.

Die bisher in Österreich verwendeten Malzsurrogate kann man in folgende Gruppen einteilen:

A. solche, die der Verarbeitung keine Schwierigkeiten entgegensetzen;

B. solche, die — und zwar in erster Linie infolge von schlechter Abläuterung — sich schwierig bzw. nur in geringem Prozentsatz verarbeiten lassen.

Die Gruppe A kann man sich weiterhin in folgende Untergruppen teilen:

1. Malzsurrogate, die die Qualität des Bieres in keinerlei Hinsicht ungünstig beeinflussen;

2. Malzersatzmittel, die — zumal in größeren Gaben verwendet — die Qualität des Bieres, insbesondere nach geschmacklicher Richtung mehr oder minder stark beeinträchtigen.

In Gruppe A lassen sich einreihen:

Untergruppe 1 Zucker und Mais,

„ 2 Verschiedene Sirupe, Kartoffelstärke und Hirsearten.

In Gruppe B fallen:

Leguminosen, Trockenkartoffeln, Edelkastanien, Topinambur usw.

Verfasser gibt in seiner Veröffentlichung eine kurze Zusammenfassung über die Laboratoriumsuntersuchung aller dieser Malzersatzmittel und deren Ergebnisse, sowie über die wichtigsten Erfahrungen mit denselben in der Praxis. R. Heuß.

Zikes, H. Über die Thesaurierung der Kulturhefe während des Stillstands der Brauereibetriebe. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation 45, 1917, S. 149.

Zu einer Zeit, da sich die Gärungsbetriebe in Tätigkeit befinden, macht die Konservierung der Hefe keine besonderen Schwierigkeiten. Die besonderen Verhältnisse der Kriegszeit werden in Bälde die Schließung der Mehrzahl der Brauereibetriebe nötig machen, wodurch sich die Frage nach der zweckmäßigsten und sichersten Art der Konservierung der Kulturhefe über die Zeit des Stillstandes erhebt. Normalerweise wird die Hefe — auch in der Brauerei und bei der Preßhefefabrikation — einfach unter reinem kaltem Wasser aufbewahrt. Handelte es sich bei Preßhefe um längere Aufbewahrung, so preßte man sie in gut schließende Metallgefäße ein und ließ sie bei möglichst tiefen Temperaturen stehen. Unter den vielfach dabei

verwendeten Konservierungsmitteln spielte besonders Zucker eine Rolle; weiter wurden besonders Gerbsäure, Chloralhydrat und Salizylsäure verwendet. Eine andere Art der Konservierung von Hefe bestand im Austrocknen der Hefe unter Beimischung verschiedener wasseranziehender Substanzen, wie Holzkohle, Knochenkohle usw. Alle diese Arten der Hefenkonservierung haben jedoch den Nachteil, daß sie die Hefe nicht vor Infektion schützen können. Andere Verfahren, wie Aufbewahrung der Hefe in einer Mischung von Glukose und Saccharose, in Glyzerin oder schwachem Alkohol führten zu einer unerwünschten Schwächung derselben infolge von Plasmolyse. Von einer zweckentsprechenden Aufbewahrung der Kulturhefen der Brauereien ist zu verlangen, daß sie widerstandsfähig, rein und physiologisch unverändert erhalten bleiben. Am geeignetsten erscheint dazu die Aufbewahrung der Hefe in 10proz. Saccharoselösung, wie bekanntlich die Reinzuchten an verschiedenen wissenschaftlichen Instituten mit Erfolg aufbewahrt zu werden pflegen. Wesentlich zum Gelingen ist eine zweimalige Überimpfung der aufzubewahrenden Reinzucht in Würze und Einbringen von wenig jugendlichen Zellen im Stadium kräftiger Gärung. Die Aufbewahrung der in mehrfacher Ausführung vorhandenen Konserve geschieht an einem kühlen, dunklen, staubfreien Ort. Zum gewünschten Zeitpunkt erfolgt dann die Überimpfung in Würze in den Reinzuchtapparat und Vermehrung durch Herführen. Würde man dann bei Wiedereröffnung der Betriebe den Brauereien mit Reinzuchtanlagen eine entsprechende Zeit vorher die Inbetriebsetzung ihrer Reinzuchtanlagen ermöglichen, so könnten diese auch andere Brauereien mit reiner Hefe versorgen. R. Heuß.

Moufang, E. Haltbarkeit und Zusammensetzung der Bierwürze. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **44**, 1917, S. 183.

Eine gute Qualität des Malzes gewährleistet nicht ohne weiteres auch ein gutes und besonders haltbares Bier. Es spielen hier zweifellos noch andere Faktoren mit. Besonders natürlich das Maischverfahren, das die Extraktbestandteile des Malzes in Lösung bezw. in richtig abgebaute Form bringt und die größere oder kleinere Widerstandsfähigkeit des Bieres gegen bierschädliche Organismen mitbedingt. Für ein besonders wichtiges Moment in den Phasen des Maischprozesses hält Verfasser das Kochen und zwar weniger nach der Art an sich (Dampf- oder Feuer- bezw. Druckkochung), sondern nach der Art und Weise, wie der Kochprozeß durchgeführt wird. Zweifellos kann jede Art der Kochung in ungenügender Weise durchgeführt werden. In Fällen erkannter ungenügender Kochwirkung wurde bei Steigerung des Kocheffektes in vielen Fällen gesteigerte Besserung in der Haltbarkeit (geringere Anfälligkeit gegen Organismen) festgestellt. Verfasser erwähnt in diesem Zusammenhang ein besonders deutliches Beispiel aus der Praxis. Die Trübwürzen eines Betriebs hielten nämlich gewöhnlich 36 bis

48 Stunden — die Proben wurden der Trubpresse entnommen und bei 20 bis 25° C lose bedeckt zur Beobachtung aufgestellt —, nach Abänderung des Arbeitsverfahrens besonders mit Rücksicht auf das Würze- bezw. Maischekochen, stieg die Haltbarkeit der Proben auf das Doppelte, ja auf das Dreifache. R. Heuß.

Zikes, H. Pektinstoffe. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation 45, 1917, S. 191.

Bei der infolge der Malzknappheit nötig gewordenen Benutzung vieler Ersatzstoffe macht die Abläuterung der Würze infolge des hohen Gehaltes dieser Substanzen an Pektinstoffen große Schwierigkeiten. Die Pektinstoffe bilden wie die Zellulose eine der wesentlichsten und am meisten verbreiteten Grundsubstanzen der pflanzlichen Zellmembrane im weiteren Sinne des Wortes, sie befinden sich in der Außenhaut, der sogenannten Mittellamelle und sind kolloidaler Natur. Sie sind chemisch noch nicht erfaßt trotz vielfacher Bemühungen, stehen den Pflanzenschleimen und Gummiarten sehr nahe, sind aber als besondere Gruppe von diesen abzutrennen und nach Tollens als Oxypflanzenschleime zu bezeichnen. Ehrlich hat in jüngster Zeit als wichtigsten Bestandteil der Pektinstoffe d-Galakturonsäure, isomer mit der im Tierreich weit verbreiteten Glukuronsäure, festgestellt. Ehrlich ging bei seinen Untersuchungen zunächst von Rübenmark aus, beschäftigte sich später aber auch mit anderen Pektinen von Früchten, Kräutern, Blättern usw. und fand jedesmal die gleiche Zusammensetzung. Er führt dabei das Pektin als Kalzium-Magnesiumsalz einer komplexen Anhydro-Arabino-Galaktose-Methoxytetragalakturonsäure auf, bei dem die Arabinosegruppe fester an das Molekül gebunden erscheint. R. Heuß.

Kühn, O. Über biologische Wasseruntersuchungsmethoden. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation 44, 1917, S. 192.

Die früher gebräuchlichen Wasseruntersuchungen betonten zu sehr die rein wissenschaftliche Seite und wichen besonders in einem von den natürlichen Bedingungen ab: die Untersuchung wird mit geringen Mengen Würze bezw. Bier und Wasser ausgeführt, wodurch verschiedene Untersuchungsfehler bedingt werden. H. Will hat seinerzeit nachdrücklich auf diese den Methoden von Hansen, Wichmann, Schlesinger anhaftenden Nachteile hingewiesen. Nach Holm kann man ohne Änderung der spezifischen Widerstandsfähigkeit der Untersuchungsflüssigkeit auf 15 ccm Würze von zirka 14° Balling $^1/_8$ ccm und auf 15 ccm Lagerbier ungefähr $^1/_2$ ccm Wasser zusetzen. Verfasser schlägt deshalb vor, die Wasseruntersuchungen mit größerem Mengen anzustellen. Er hat bei eigenen Versuchen gemäß dem Befund von Holm 120 ccm Würze bezw. Bier verwendet und dabei stets befriedigende Resultate erhalten. Anscheinend wird auf diese Weise — worauf auch

H. Zikes schon hingewiesen hat — nicht nur eine Verringerung der Versuchsfehler, sondern auch ein gleichmäßigeres Untersuchungsergebnis im Vergleich zu obengenannten Methoden erzielt. R. Heuß.

Moufang, E. Wie weit läßt sich die Extraktausbeute eines Malzes brautechnisch steigern? (Maximalverfahren.) Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 209.

Verfasser versucht an Hand einiger Versuchsergebnisse vergleichend darzutun, in welchem Maße sich die Extraktausbeutung eines gegebenen Malzes praktisch steigern läßt, ohne dabei die Qualität des entstehenden Bieres zu gefährden. Die Extraktausbeutung eines Malzes ist mit dem Maischprozeß beendigt; jede Abläuterungsfrage behandelt die Trennung des gelösten Extraktanteils von dem unlöslichen Teil der Maische. Ein spezielleres Abläuterungsverfahren kann gegenüber einem andern grundsätzlich nie mehr absoluten Extrakt gewährleisten, es kann sich höchstens um eine Kürzung der Abläuterungszeit handeln unter der Voraussetzung, daß in allen Fällen die Abläuterung praktisch restlos geschieht. Verfasser hat in seinem Laboratorium ein Verfahren ausgearbeitet, das maximale Ausbeute gewährleisten soll. Um die Wirkung des Verfahrens auf die Steigerung der Extraktausbeute deutlicher hervortreten zu lassen, werden bei den Untersuchungen zugleich das Kongreß- und Vormaischverfahren mit Eiweißrast in ihren Ergebnissen mit angeführt. Nach Vorversuchen durchgeführte Sude mit dunklem Malz ergaben 79—80 % Gärkellerausbeute in der Trockensubstanz. Die Biere selbst waren in jeder Beziehung einwandfrei, wenig empfindlich gegen Infektion, gut schaumhaltig, vollmundig und rein im Geschmack. Verfasser will später an anderer Stelle ausführlich über das Verfahren und weitere Versuche in der Praxis berichten. R. Heuß.

Cluß, A. Wieder ein neues Malzersatzmittel, die Quecke! Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 235.

In neuerer Zeit sucht man als Malzersatzmittel der Not gehorchend nicht mehr bloß jene landwirtschaftlichen Produkte heranzuziehen, die Stärke und Zucker in größeren Mengen enthalten, sondern richtet Augenmerk auch auf Pflanzen bezw. Pflanzenteile mit geringerem Gehalt an obengenannten Kohlehydraten. Dieses Bestreben kann naturgemäß leicht auf Abwege führen, da es schließlich doch nicht nur auf den allerdings unerläßlichen Gehalt an Kohlehydraten, sondern wesentlich auch auf den Geschmack des aus jenen Produkten entstehenden Getränkes ankommt. Die Queckenwurzel wurde früher wenig beachtet und verwendet. Versuche des Verfassers, daraus Bier zu erzeugen, fielen wenig befriedigend aus, und zwar 1. weil der Queckenauszug eine mißfarbig grünlich-dunkle Brühe lieferte und deshalb für die Herstellung lichter oder auch nur goldfarbiger Biere kaum

in Frage kommen kann; 2. weil dieser Auszug eine sehr schlechte Vergärung, verbunden mit deutlich erkennbarer Degenerierung der Hefe, gab und 3. weil sowohl die Würze, wie auch das vergorene Dekokt einen rauhen, widerlich bitteren, lange an Zunge und Gaumen anhaftenden Geschmack zeigte. R. Heuß.

Zikes, H. Die Quecke. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 236.

Die Quecke (Triticum repans L.) ist ein häufig vorkommendes Unkraut mit reichverzweigtem Rhizom und vielen Ausläufern. Letztere werden von den Wurzeln und Blattscheiden gesäubert, gewaschen und gelangen geschnitten als Quecken- oder Graswurzeln in den Handel. Sie enthalten $2^1/_2$—$3^1/_2$% Zucker, etwa 8% Triticin. Dieser inulinähnliche Körper von der Formel $6(C_6H_{10}O_5)$ stellt gereinigt ein weißes, glänzendes, hygroskopisches, zerfließliches, leicht lösliches Pulver dar, das selbstverständlich nicht direkt gärungsfähig ist und auch Fehlingsche Lösung kaum reduziert. Durch Salpetersäure wird es zu Oxalsäure oxydiert und liefert beim Kochen mit Wasser oder verdünnten Säuren, sowie unter dem Einfluß von Diastase Fruchtzucker. Bei der Frage der Verwendung der Quecke in der Brauerei ist entscheidend, ob nicht neben diesen Kohlehydraten noch andere, auf Geschmack und Bekömmlichkeit ungünstig einwirkende Extraktivstoffe vorhanden sind. R. Heuß.

Rudolf, C. Über Pyricit und seine Wirkung auf Mikroorganismen. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **45**, 1917, S. 241.

Jedes Desinfektionsmittel äußert in seiner Wirkung eine mehr oder minder spezifische Wirkung. Man unterscheidet nach O. Löw allgemeine (auf alle lebenden Organismen wirkende) und spezielle Gifte, welch letztere nur auf bestimmte Organismenarten oder -gruppen einwirken. Andere Forscher bilden aus den Giften rein chemische Gruppen, oder fassen sie nach physiologischen Gesichtspunkten zusammen. Das Desinfektionsmittel Pyricit besteht nach dem Ergebnis der chemischen qualitativen Analyse der Hauptsache nach aus Natrium, Schwefelsäure, Borsäure und Fluorwasserstoffsäure mit Spuren von Eiweißverbindungen. Quantitativ stellte man Borfluornatrium, Natriumfluorid und Natriumbisulfat fest. Man prüfte das Mittel in seiner Einwirkung auf eine Reihe von Organismen. Die Desinfektionsversuche ergaben, daß Pyricit auf alle untersuchten Organismen sehr stark aseptisch und desinfizierend, besonders gegen Schimmelpilze wirkt. Bei den Versuchen kamen folgende Organismen zur Verwendung:

1. Sacch. cerevisiae,
2. Saccharomycodes Ludwigii Hansen,
3. Bacterium aceti Kützing,

4. Bact. mesentericus vulgatus,
5. Cladosporium herbarum,
6. Penicillium italicum Wehmer.

Bei 50° C war die Wirkung kräftiger als bei niederen Temperaturen. Die letale Dosis lag für 10 g Hefe zwischen 0,5 und 0,25 g Pyricit.

R. Heuß.

Zikes, H. Über die biologische Beschaffenheit künstlicher Mineralwässer und Limonaden. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation **44**, 1917, S. 271.

Infolge des Mangels an geeigneten Braumaterialien werden die Brauereibetriebe jetzt vielfach für andere Zwecke ausgenutzt, besonders häufig zur Herstellung von Erfrischungsgetränken wie Sodawasser, Selterswasser oder Limonaden. Bei der Darstellung solcher Genußmittel muß natürlich die gleiche Reinlichkeit herrschen im Betriebe wie bei der Erzeugung von Bier, es dürfen nur biologisch einwandfreie Apparate, besonders aber auch nur reines Wasser verwendet werden, um das Aufkommen von schädlichen Organismen zu vermeiden. Es fand z. B. Riegler

Bakterium fluorescens liquefaciens	in	76
„ „ n. c.	„	35
„ aquatile odorans	„	21
„ chrysogloca	„	15
„ aquatile commune	„	13
„ arborescens	„	10
„ gasoformans	„	10
Micrococcus candicans	„	24
„ sulfureus	„	15
„ roseus	„	13

Prozent der untersuchten Wässer. ein Beweis, wie sehr Reinlichkeit not tut. Oft ist auch eine wesentliche Zunahme der organischen Substanz als Folge nachträglicher Verunreinigung feststellbar. Bessere biologische Untersuchungsergebnisse als bei künstlichen Wässern erhält man in der Regel bei Limonaden infolge ihres Gehalts an freien Säuren, wie Weinzitronen-Apfelsäure, die das Aufkommen von Bakterien unterdrücken.

R. Heuß.

Thausing. J. Das österreichische Einheitskriegsbier und dessen Erzeugung. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation **44**, 1917, S. 291.

Für die Erzeugung des geringgrädigen Bieres behalten alle jene Grundsätze Geltung, die bei der Erzeugung des Normalbieres zu beachten sind. Ihre Durchführung erfordert jedoch besondere Fachkenntnis und Umsicht der Leitung, auch wird eine größere Fabrikationsfreiheit als bisher unumgänglich nötig sein. Je leichter das Bier wird, desto größer werden die Fabrikations-

schwierigkeiten. Die größte Schwierigkeit wird in der Unmöglichkeit liegen, Samenhefe in genügender Menge und von gewünschter Güte zu ernten, da die Hefe in den dünnen Würzen bald zu Entartung neigt. Zur Kräftigung der Hefe wird es sich empfehlen, sie von Zeit zu Zeit in stärkeren Würzen zu führen, oder sich wenigstens des bekannten „Herführens“ der Hefe zu bedienen. Bei der Bemessung der Hefengabe darf nicht zu sehr gespart werden, da die Würze rasch angären soll, um einen wirksamen Schutz gegen das Überhandnehmen von bierschädlichen Organismen zu bieten. Infolgedessen darf auch die Anstelltemperatur nicht zu tief gewählt werden. Öftere Einführung von Reinhefe ist unerläßlich, außerdem sind Anstellgefäße empfehlenswert. Zur Einleitung einer kräftigen Nachgärung wird das Bier „grün“ gefaßt. Je leichter das Bier ist, desto wichtiger, aber auch um so schwieriger ist dessen Anreicherung mit Kohlensäure. Die wichtigsten Bedingungen dafür sind: Kräftig einsetzende und anhaltende Nachgärung und kalte Lagerung des Bieres. Ist der Druck an den Spundapparaten zu gering, dann muß alsbald durch Aufkräusen nachgeholfen werden. Auf die richtige Vergärung ist großer Wert zu legen, nur ein weitvergorenes Bier wird geschmacklich befriedigen und entsprechend haltbar sein. Außerdem muß das Bier umso früher zum Ausstoß kommen, je geringgrädiger es ist, da die Haltbarkeit naturgemäß nur eine beschränkte ist. Die Hopfengabe ist nicht zu übertreiben, da sonst leicht eine aufdringliche Bittere des Geschmacks entsteht, die besonders bemerkbar wird, wenn das Bier schal wird. Die Menge des Hopfens muß im umgekehrten Verhältnis zur Höhe der Bierfarbe stehen, d. h. je dunkler das Bier, desto weniger Hopfen. Das bei der Darstellung von geringgrädigem Bier verwendete Malz soll gut ausgedarrt sein, es darf keine weitgehende Auflösung besitzen. Selbstverständlich wird man auf die Erzielung einer möglichst hohen Malzausbeute achten.

R. Heuß.

Zikes, H. Über den Einfluß des Luftdrucks auf die Gärung. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation 45, 1917, S. 299.

Verfasser hat schon früher gemeinsam mit V. Koudelka nachgewiesen, daß der Endvergärungsgrad bei Gärverschluß durchschnittlich höhere Werte aufweist als bei Watteverschluß, daß aber im letzten Fall mehr Kohlensäure in gleichen Zeiten abgegeben wird. Anscheinend wird die Hefe bei Gärverschluß zu höheren Leistungen gezwungen, um sich den für ihr Gedeihen notwendigen Sauerstoff zu beschaffen. Bei den Versuchsgefäßen mit Watteverschluß machte man die Beobachtung, daß die Kohlensäureabnahme von Tag zu Tag nicht gradatim fällt, sondern Unregelmäßigkeiten, manchmal sogar eine Zunahme in der Kohlensäureentweichung aufweist. In der Zwischenzeit wurde nun von A. Rippel die interessante Beobachtung gemacht, daß bei schwach vor sich gehenden Gärungen der Gärungsverlauf von

dem Atmosphärendruck, also vom Einfluß des Barometerstandes abhängig ist. Bei hohem Barometerstand findet eine geringere, bei niederem eine höhere Kohlensäureabgabe statt. Mit dieser Feststellung finden auch die von Zikes seinerzeit festgestellten, aber nicht ohne weiteres erklärbaren Schwankungen in der Kohlensäureabgabe bei Watteverschluß ihre Erklärung. Bei Gärverschluß kamen diese Schwankungen wegen der Expansionskraft der Kohlensäure im Innern der Kölbchen nicht vor. R. Heuß.

Jalowetz, E. Über die Quecke. (Mitteilungen a. d. Institut f. Gärungsindustrie in Wien.) Die Brau- u. Malzindustrie **18**, 1917, S. 186.

Das letzte Malzersatzmittel ist die sog. Queckenwurzel, das Rhizom von Triticum repens L. aus der Familie der Gramineen, eine Pflanze, die anscheinend schon früher ab und zu in der Gärungsindustrie Verwendung gefunden hat. Neben Zucker und Triticin — ein Polysaccharid — fand man in der Queckenwurzel Kaliumoxalat, Gummi (Schleim), Inosit und Mannit. Die Asche des Rhizoms beträgt durchschnittlich 4,5 % und zeigt folgende Hauptbestandteile:

32,5 % SiO_2	16,3 % $Fe_2O_3 + Al_2O_3$
9,7 % Na_2O	7,3 % CaO.

Die Extraktausbeute des Rhizoms dürfte etwa 20 % betragen. Verfasser ist der Ansicht, daß auf Grund der komplizierten Verarbeitungsmöglichkeit, der geringen Extraktausbeute und des eigenartigen Geruchs und Geschmacks der Würzen wenig Aussicht besteht, daß sich die Quecke allein oder in Verbindung mit einem kleinen Malzzusatz in der Brauindustrie Eingang verschaffen wird. R. Heuß.

Jalowetz, E. Queckenbier. Mitteilungen a. d. Institut f. Gärungsindustrie in Wien. (Vorläufige Mitteilung.) Die Brau- u. Malzindustrie **18**, 1917, S. 187.

Als letztes Malzersatzmittel taucht neuerdings die Quecke auf, die besonders der Direktor des Instituts für Spiritusindustrie in Prag, Anton Nydole, als Notsurrogat in der Brauerei einzuführen bestrebt ist. Verfasser ließ an seinem Institut Laboratoriumsversuche mit Quecke durchführen, die jedoch vorläufig zu keinem befriedigenden Ergebnis führten. Die Extraktion gestaltete sich schwierig, das vergorene, haltbare Produkt zeigte nur wenig Schaum, der Geruch war süßlich, nicht angenehm und der Geschmack fremdartig und zusammenziehend. Die Versuche sollen fortgesetzt werden.

R. Heuß.

Bokorny, Th. Verhältnis von Zuckervergärung und Zuckerassimilation. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 477.

Die Frage, wie viel von dem der Hefe zur Verfügung stehenden Zucker vergoren und wie viel assimiliert ist, hat schon eine Reihe von Forschern,

wie Pasteur, Märker, Ehrlich beschäftigt. Verfasser stellte selbst Versuche an, die dartun sollten, ob eine Steigerung der Zuckerernährung dadurch möglich ist, daß man der Hefe die Zuckermenge nicht auf einmal darbietet, sondern in mehreren Portionen nacheinander. Es zeigte sich, daß durch diese Maßnahme tatsächlich eine Steigerung der Zuckerernährung möglich ist. Was die Assimilation des Zuckers betrifft, so ist darüber zu sagen, daß die neben dem Zucker der Hefe noch gebotene Art der Stickstoffquelle von wesentlichem Einfluß ist. R. Heuß.

Wiegmann, D. Die Nährstoffausnützung der Gerste bei ihren wichtigsten Verwendungsarten unter besonderer Berücksichtigung der für die Ernte 1916 gegebenen Verhältnisse. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 537.

Unter diesem Titel erschien eine Broschüre von H. Trillich, die sich mit der Verwendung von Gerste zur Herstellung von Graupen und Mehl, zur Schweinefütterung, zum Bierbrauen und zur Herstellung von Malzkaffee befaßt. Dabei wird in einseitiger Weise dem Malzkaffee das höchste Lob gespendet, während die Brauindustrie eine durchaus unzutreffende Würdigung erfährt. Insbesondere legt Trillich, in Verkennung des heutigen hohen Standes der Brauindustrie, seinen Berechnungen die auffallend niedere Sudhausausbeute von knapp 68 % zugrunde. Wiegmann kritisiert die Auslassungen Trillichs entsprechend und stellt zum Schluß die Ausnützungszahlen der folgendermaßen zusammen. Es beträgt die Ausnützung der 3328 Wärmeeinheiten der Gerste nach Trillich in Prozenten:

	Mit Abfallfütterung	Ohne Abfallfütterung
bei Malzkaffee	47,0	41,0
bei der Bierbrauerei	57,9	54,4
Nach Wiegmanns Berechnungen:		
beim Nürnberger Malzkaffee . . .	43,2	41,4
beim städtischen „ . . .	39,4	36,6
bei der Bierbrauerei	61,9	58,8

R. Heuß.

Bokorny, Th. Zur Ernährungsphysiologie von Alkoholen und Säuren bei Hefen und anderen verbreiteten Pilzen. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung **57**, 1917, S. 747.

Unter den bei der Hopfengärung regelmäßig auftretenden Produkten befinden sich Alkohole und Säuren. Über das Verhalten von Alkoholen als Ernährungsquelle trifft wohl Loew das Richtige, wenn er behauptet, daß mehrwertige Alkohole besser sind als die entsprechenden einwertigen und ferner, daß bei einwertigen Alkoholen der Fettreihe der Nährwert mit

steigender Anzahl von C-Atomen abnimmt. Methylalkohol beispielsweise ist besser als Amylalkohol. Von Säuren stellte man bei der alkoholischen Gärung bisher fest: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Baldriansäure, Kapronsäure, Kaprinsäure, Kaprylsäure, Pelargonsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure. Alle Säuren wirken nach den Untersuchungen des Verfassers bei einem gewissen Prozentsatz verzögernd auf die Hefengärung. Die Grenze der Wirksamkeit liegt jedoch ziemlich hoch. Ameisen- und Oxalsäure sind am schädlichsten.

Verfasser hat außer Alkoholen und Säuren auch einige Basen, Kali und Ammoniumhydroxyd, in ihrer Wirkung auf Hefen und andere Pilze geprüft und festgestellt, daß sie wirksamere Gärgifte sind als die Säuren.

R. Heuß.

Bokorny, Th. Spaltung von Benzol- und Eiweißverbindungen durch die lebende Hefen- und Pilzzelle. Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung 57, 1917, S. 869 u. 885.

Es ist zu unterscheiden zwischen Spaltungen, die den Benzolkern selbst betreffen und solchen, die nur in einer Abtrennung von Seitenketten bestehen. Letztere Art geschieht natürlich leichter als erstere. Meist führt die Spaltung zur wenigstens teilweisen Verwendung der Spaltungsprodukte im Ernährungsbetrieb der Zelle. Entstehen schädliche Stoffe, dann hört die weitere Einwirkung infolge Absterbens der Zellen bald auf. Tote Zellen können keine Spaltung mehr ausüben, sofern nicht etwa Fermente (Enzyme) noch in aktivem Zustand verblieben sind, die eine Spaltung gewisser Stoffe noch zustande bringen. (Hefenpreßsaft, Azetondauerhefe usw.) Fermente, die den Benzolkern spalten, sind nicht bekannt, auch ist die Art der Wirksamkeit der Fermente noch nicht geklärt. Noch dunkler als der Gärungsvorgang ist der Assimilationsvorgang bei Verwendung der zahlreichen, zur Ernährung von Pflanzenzellen tauglichen Organstoffe. Es ist beispielsweise nicht bekannt, was vor sich geht, wenn der Benzolkern durch das lebende Protoplasma gespalten wird, z. B. wenn Phenol zur Kohlenstoffernährung der Zelle dient. Verfasser geht in seiner Mitteilung deshalb nur auf die anscheinend wenig bekannte Tatsache einer protoplasmatischen Spaltung von Benzolkörpern ein und stellt die einschlägigen Tatsachen tabellarisch zusammen. Aus den aufgeführten Beispielen von Benzolverbindungen ohne nährende Seitenkette geht zweifellos hervor, daß manche Pilzzellen den Benzolkern spalten und verwenden. Hat das Nährsubstrat eine nährende Seitenkette, dann kann die Ernährung auf Abspaltung dieser Seitenkette beruhen. Dies ist z. B. denkbar bei der Mandelsäure oder bei der Salizylsäure.

Bei der Spaltung der Eiweißstoffe entsteht eine große Anzahl von Spaltungsprodukten. Man findet davon erwähnt: Leucin, Glutamin, Tyrosin, Asparaginsäure, Cystin, Serin, Prolin, Phenylalanin, Lysin, Histidin, Arginin,

Tryptophan, Glykokoll usw. in wechselnder Menge. Fraglich ist nun, ob die Spaltungsprodukte im Eiweißmolekül präformiert sind und zuerst als Vorstufe die entsprechenden Aminosäuren entstehen müssen. Vom physiologischen Standpunkt aus ist dies nicht sehr wahrscheinlich. R. Heuß.

Bokorny, Th. Einige weitere Beobachtungen über Hefenvermehrung. Allg. Brauerei- u. Hopfenzeitung **56**, 1917, S. 1009 u. 1025.

Vielfach wird die Ansicht vertreten, daß Traubenzucker für Hefe keine geeignete Kohlen stoffquelle bilde, auch frühere Versuche des Verfassers führten zu dem an sich nicht recht glaubhaft erscheinenden Resultat. Neue, darauf vom Verfasser unternommene Versuche, ließen bald erkennen, daß bei den früheren Versuchsreihen das Verhältnis der Hefengabe zu der Menge angewandten Zuckers nicht günstig war und den negativen Ausfall der Versuche veranlaßt hatte. Bei den neuen Versuchen erhielt man einwandfreie Vermehrung der Versuchshefe bei Anwendung von Traubenzucker als einziger Kohlenstoffquelle. Die diesmal erwähnten Versuche des Verfassers laufen der Hauptsache nach auf eine Gewinnung von Hefe aus Nährflüssigkeiten mit beträchtlichen Zuckermengen hinaus, die jetzt aber nicht verfügbar sind. Die Zuckerverwendung für Hefenfabrikation bildet gegenwärtig eine der Hauptschwierigkeiten für die Massenerzeugung. Verfasser regt die Frage an, ob es nicht angängig erscheint, die Ablaugen der Sulfit-Zellulosefabriken, die Mannose, Galaktose, Xylose enthalten, nach entsprechender Entgiftung und unter Auswahl der geeigneten Hefenrasse zur Gewinnung von Hefe in großem Maßstab heranzuziehen. R. Heuß.

Rothenbach, F. Prüfung einer älteren Fabrikanlage auf die Möglichkeit der Fortsetzung des Betriebs unter den augenblicklich ungünstigen Verhältnissen. Die deutsche Essigindustrie **21**, 1917, S. 101.

Verfasser berichtet über die Prüfung einer älteren Fabrikanlage mit 18 Essigbildnern und die zur Fortsetzung eines einwandfreien und ungestörten Betriebs getroffenen Maßnahmen. R. Heuß.

H. Wüstenfeld. Die Verwendung von Kurvenzeichnungen bei der Betriebskontrolle von Essigfabriken. Die deutsche Essigindustrie **21**, 1917, S. 93.

Zu dem unentbehrlichen Inventar einer Essigfabrik gehört vor allem das Betriebskontrollbuch. Darin sollten täglich Aufzeichnungen über die Temperaturverhältnisse der Bildner und des Fabrikraumes, über die Menge des täglichen Aufgusses und den Prozentgehalt an Essigsäure und Alkohol, ab und zu auch Angaben über die Säurestärke des gewonnenen Essigs und dessen Prozentgehalt an unverarbeitetem Restalkohol enthalten sein. Von Zeit zu Zeit sollen sich auch die Resultate der Einzeluntersuchungen aller

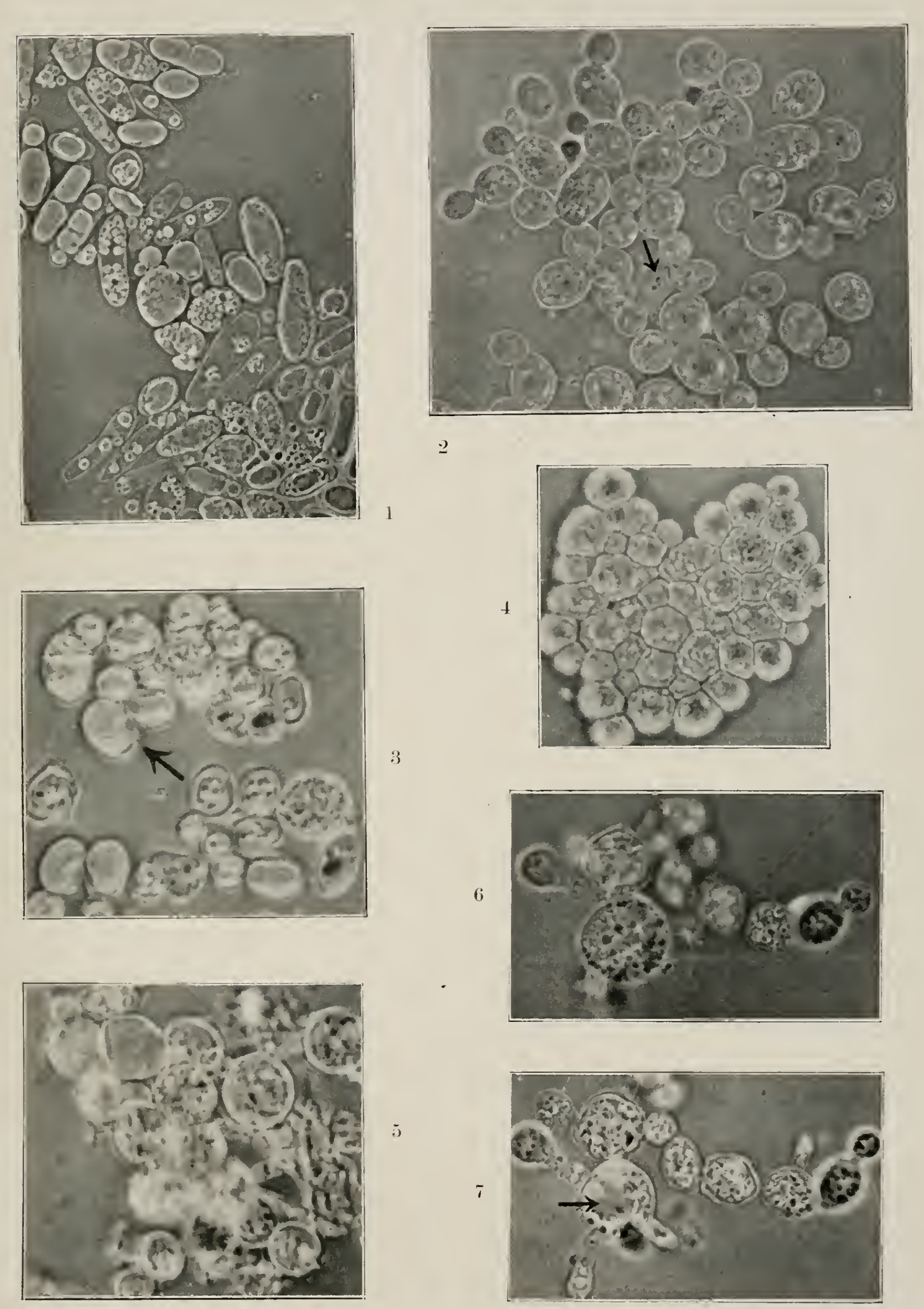
Bildner darin vorfinden, um einzelne Apparate mit ungenügenden Leistungen, die das Gesamtergebnis der Fabrik beeinträchtigen, herauszufinden. Nachgewiesenermaßen ermüden Zahlenreihen bei längerer Durchsicht, auch fehlt ihnen oft die wünschenswerte Übersichtlichkeit. Verfasser hat daher seit etwa einem Jahre neben der Zahl die Kurve zur Gewinnung eines besseren Überblicks über die Betriebsergebnisse eingeführt. Die Zweckmäßigkeit der Verwendung der Kurve geht aus den Ausführungen des Verfassers deutlich hervor. R. Heuß.

Windisch, W. und Foerster, H. Über die angebliche „Hemizellutase" und ihre Nutzbarmachung beim Maischen zwecks Steigerung der Extraktausbeute. Wochenschr. f. Brauerei **32**, 1915, S. 253.

Vor kurzem veröffentlichte Ch. B. Davis in den „Letters on Brewing" eine Abhandlung mit dem Titel „Über ein stärkebildendes Enzym aus Malz: Seine Wirkung auf die Hemizellulosen und seine Nutzbarmachung in der Brauerei". Der Inhalt dieser Veröffentlichung, von der Windisch eine Übersetzung in der „Wochenschrift für Brauerei" brachte, bestand in einer Mitteilung des Verfassers von der Isolierung eines Enzyms aus Malz, das Hemizellulose in Stärke umzuwandeln vermöge. Die günstigste Wachstumstemperatur wurde mit 82,5 °C angegeben. Die Getreidearten Gerste, Mais, Reis, auch Malz enthalten Hemizellulosen in beträchtlichen Mengen, die beim gewöhnlichen Maischverfahren ungelöst in den Trebern verbleiben. Durch längeres Einhalten der Temperatur von ca. 80 °C sollten diese Stoffe in Stärke verwandelt werden, die bei darauffolgender Behandlung mit diastasehaltigem Maischmaterial als normaler Würzeextrakt gewonnen werden könnten und so die Extraktmenge erhöhen würden. Davis stellte eine Mehrausbeute von mindestens $3^1/_2$ % über die Laboratoriumsausbeute und 8 % mehr Bier in Aussicht, als bei dem gewöhnlichen Verfahren zu erwarten sei.

Verfasser machten sich sofort an eine Nachprüfung dieser verheißungsvollen amerikanischen Entdeckung, indem sie im Laboratorium und im Betrieb entsprechende Versuche durchführten und auch andere Praktiker zur Durchführung solcher Versuche veranlaßten. Auf Grund des so zusammengekommenen Materials sehen sich die Verfasser jetzt zu der Mitteilung veranlaßt, daß sich die Angaben des Amerikaners nach keiner Richtung hin bestätigt haben. Das Ganze bezeichnen sie als eine große Täuschung und Enttäuschung. Von einer nennenswerten Wirkung der „Hemizellutaserast" war in keinem Fall die Rede.

R. Heuß.



Aufnahmen von P. Lindner. Sämtliche Bilder 1000fach vergr.

Verfettung von Kulturhefen auf Würzeagar 1 und in mineralischer Nährlösung 2—7.
Erläuterung im Text S. 80 u. ff.



Über die Optimalbedingungen der Milchsäurebakterien vom Typus Streptococcus lactis

von

Olof Svanberg

(Aus dem chemischen Laboratorium der Hochschule zu Stockholm).

Eingegangen am 23. April 1919.

Auf dem Gebiete der kohlenhydratvergärenden Mikroorganismen findet man in der älteren Literatur bisweilen die Ansicht vertreten, daß diejenigen Säuregrade, welche gärende Hefen oder Bakterien im Medium selbst zu schaffen imstande sind, als eine „natürliche Azidität" oder wenigstens eine für das Fortkommen des betr. Organismus besonders günstige Reaktion aufzufassen seien. Durch die spätere Nachprüfung mit Hilfe der neueren Methoden der biochemischen Aziditätsmessung ist gegen diese Annahme festgestellt worden, daß die von den Mikroorganismen durch Enzymwirkungen produzierten Säuremengen von der Größenordnung sein können, daß sie — dem Medium von vornherein zugesetzt — sicherlich jede Entwicklung der betr. Bakterienart ein Hindernis bieten oder gar dessen Tod verursachen können.

Zu einem solchen Ergebnis sind Michaelis und Marcora[1]) betreffs Bacterium coli gekommen und vom Verfasser[2]) ist festgestellt worden, daß der weitaus größte Teil der Totalsäure, den ein Bacterium casei ε (v. Freudenreich) in einer Milchkultur erzeugt, bei für das Bacterium entwicklungshemmenden Umständen produziert wird und also als ein rein enzymatisches Produkt der schon ausgewachsenen Mikroorganismen betrachtet werden muß. Ferner haben Boas und Leberle[3]) — ohne jedoch auf die optimalen Aziditätsbedingungen der Hefen näher einzugehen — in einer vor kurzem veröffentlichten Arbeit hervorgehoben,

[1]) Michaelis und Marcora, Zeitschr. für Imm. **14**, 170 (1912).

[2]) Svanberg, Dissertation, Stockholm 1918.

[3]) Boas und Leberle, Biochem. Zeitschr. **90**, H. 1—2 (1918).

daß die von Lüers[1]) gefundenen p_h-Zahlen (etwa 2,7) welche gärende Unterhefen unter geeigneten Bedingungen hervorzurufen imstande sind, keine Optimalzahlen, sondern eher ganz extreme Grenzaziditäten darstellen können.

Durch Dernby[2])[3]) sind neuerdings die optimalen Reaktionsbedingungen für das Wachstum von Pneumokokken studiert und zu p_h etwa 7,8 festgestellt worden.

Die hier zu besprechenden Resultate haben ihren Grund in der Beobachtung, daß mit Mineralsäuren oder organischen Säuren (welche letztere außerdem neben den H-Ionenwirkungen spezifische Giftwirkungen ausüben) schwach angesäuerte sterile Milchproben nach der Einimpfung von Streptococcus lactis immer um so eher gerinnen, je weniger Säure von vornherein zugesetzt wurde, je näher also die Ausgangsreaktion der Milchprobe derjenigen der sterilisierten Kuhmilch ($p_h = 6$) gleichkommt. Da ich meine Untersuchungen über Milchsäurebakterien in anderem Zusammenhang ziemlich ausführlich publiziert habe[4]) sei an dieser Stelle nur der folgende Auszug gegeben:

Versuch mit H_2SO_4

Nr.	Anfangsazidität (p_h)	Gerinnungszeit	Relative reciproke Zahlen
1	6,4	60	10
2	5,8	60	10
3	5,5	70	8,6
4	5,3	76 Stunden	7,9

Diese Aktivitätszahlen ergänze ich durch einige Zellenzählungen an Molkekulturen, die durch Zusatz von NaOH ganz schwach alkalisch gemacht worden waren:

Versuch mit NaOH

Nr.	p_h	Zellenzahl pr. ccm (46 St.)	Relative Zahlen
1	6,0	120 000 000	10
2	6,75	1 200 000	0—1
3	7,8	Spuren	0—1
4	8,2	0	0

Als saure Grenze für das Wachstumsvermögen dieser Bakterien wurde immer $p_h = 3{,}3—3{,}4$[5]) gefunden, gleichgültig ob diese Reaktion durch Zusatz von H_2SO_4, HCl oder H_3PO_4 hergestellt worden war.

---

[1]) Dernby und Avery, Journ. of exp. Med. 28, 345 (1918).

[2]) Dernby, Arrhenius-Festschrift Medd. fr. k. Vet.-Akads Nobelinstitut, Bd. 5.

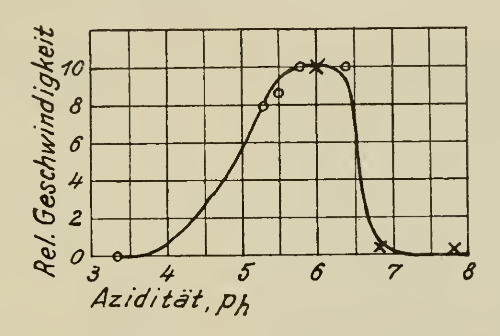
[3]) Lüers, Zeitschr. f. d. ges. Brauereiwes. 37, 79 (1914).

[4]) Svanberg, Loc. cit.

[5]) Diese Reaktion liegt bedeutend niedriger als diejenige ($p_h = 4$ bei etwa 100 Thörnergrade Titrationsazidität) die Streptococcus lactis bei Vergärung gewöhnlicher

Die also erhaltenen relativen Zahlen sind in der Figur als Ordinaten eingezeichnet worden, die zugehörigen Abszissen repräsentieren die ihnen entsprechenden Werte von p_h.

Aus der Kurve ergibt sich also mit aller Wahrscheinlichkeit, daß die für den untersuchten Stamm von Milchsäurestreptokokken günstigte Reaktion etwa durch $p_h = 6$ charakterisiert ist. Dies ist ja zugleich die Azidität der frischen Kuhmilch, des natürlichen Nährsubstrates dieser Mikroorganismen, durch dessen spontane Gerinnung sie sogar in natürlicher Reinzucht erhalten werden, trotzdem daß sie in frisch gemolkener Milch in quantitativer Hinsicht immer nur einen sehr spärlichen Anteil an der Gesamtflora haben. Dieses klassische Beispiel einer selektiven Kultur wird in der Literatur bekanntlich damit erklärt, daß die echten Milchsäurebakterien so unvergleichlich gut an den Nahrungsstoffen der



Milch angepaßt seien, während es wohl noch besser durch ihre für die Entwicklung dieser Mikroorganismen so besonders geeignete Reaktion zu erklären ist. Wir wissen ja auch, daß frische Kuhmilch, die mit NaOH nur äußerst schwach alkalisch gemacht wird, nicht in der gewöhnlichen Weise durch die Entwicklung von Streptokokken gerinnt, sondern der Tätigkeit fadenziehender Bakterien anheimfällt[1]).

Den oben beschriebenen recht ähnliche Resultate habe ich an Bacterium casei ε erhalten. Trotz seines im Vergleich zu den Milchstreptokokken viel größeren Säurebildungsvermögens (der untersuchte

---

Milch zu erzeugen imstande ist. Diese Tatsache findet dadurch ihre Erklärung, daß in Milch- und Molkekulturen es nicht die H-Ionen, sondern die undissoziierte Milchsäuremoleküle sind, die der Gärung ein Hindernis bieten, ein Resultat van Dam's (Zeitschr. physiol. Chem. 87, 107 (1918), das Verf. sowohl bezügl. dieser Bakterie als für Bacterium casei ε bestätigen konnte.

[1]) Das Schleimigwerden der Milch bei alkalischer Reaktion wird von Emmerling (Baumgartens Jahresber. II. 1900, 408) dem Bact. lactis aerogenes zugeschrieben.

Stamm säuerte bei 35° in Milch bis zu $p_h = 3{,}0$ oder 400° Thörner) war die Aziditätstoleranz der wachsenden Zellen bei dieser Bakterie also nicht größer als diejenige des Streptococcus lactis, d. h. das Wachstum wurde auch hier bei $p_h = 3{,}4$ aufgehoben. Die größere Milchsäurebildung fand in einer viel geringeren Empfindlichkeit gegen undissoziierte Milchsäure ihre Erklärung. Bacterium ε säuerte nämlich in vorher mit steigenden Mengen Natriumlaktat versetzten Würze- und Molkekulturen bis diese in Bezug auf undissoziierte Milchsäuremoleküle 0,1 — normal waren, während Streptococcus lactis in demselben Maß schon in 0,01 — normaler Lösung zu gären aufhört. Die Alkalitoleranz von Bacterium ε war aber sehr klein, es vermochte sogar beim Neutralpunkt ($p_h = 7{,}1$) nicht mehr zu wachsen und ist demnach auf saure Reaktion des Nährbodens unbedingt angewiesen. Durch diese Tatsache wird der Umstand leicht erklärt, daß Laktobazillen auf unseren gewöhnlichen, gegen Lackmus neutralisierten Nährböden wie Gelatineplatten und dergl. nicht gedeihen, und ebenso fand Barthel[1]) bei seinen Studien über das Wachstum verschiedener landwirtschaftlich wichtiger Mikroorganismen in sterilisierter Erde für die Tatsache eine einfache Erklärung, daß dieses Bakterium in den Erdkulturen nur dann aussproßte, wenn die Erde vorher gegen Lackmus angesäuert worden war. Auch unsere Ansichten über das symbionistische Verhalten zwischen Milchsäurekokken und Laktobazillen in dem Yoghurt und derartigen Erzeugnissen gewinnt durch Berücksichtigung der p_h-Bedingungen an Stärke.

Zuletzt will ich hervorheben, daß diese Resultate nur für das begrenzte Gebiet der Milch-Milchsäurebakterien gültig sind. Eine Arbeit[2]) über das Verhalten der Hefe in alkalischen Zuckerlösungen hat nämlich zur Entdeckung einer besonderen Klasse alkalitoleranter Kokken geführt, die sehr regelmäßig in den Stockholmer Preßhefen vorkommen. In der Tat erwies es sich immer als möglich aus diesem Material durch zwei sukzessive Überimpfungen in Hefenwasser oder Würze bei 35° und $p_h = 9{,}7$ zu einer natürlichen Reinzucht milchsäureproduzierender Streptokokken zu gelangen, die indessen bei der Züchtung in Milch- und Gelatinekulturen in allen wesentlichen Eigenschaften mit dem echten Streptococcus lactis übereinstimmen.

---

[1]) Barthel, Arrhenius-Festschr. Medd. fr. k. Vet.-Akads Nobelinstitut, Bd. 5 (1919).

[2]) Euler und Svanberg, Arkiv för Kemi etc. Bd. 7 (1918).

Beiträge zur Kenntnis einer Mycodermahefe

von

Elsie Vougt.

(Aus dem Biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

Eingegangen 1. Juni 1919.

Gerade in den letzten Jahren ist die biochemische Hefeforschung mächtig emporgewachsen, besonders in bezug auf quantitative Angaben. Die meisten Forscher haben sich jedoch fast ausschließlich mit den aus den industriellen Großbetrieben erhältlichen „Kulturhefen“ beschäftigt. Je mehr aber in dieser Richtung geleistet wird, um so mehr muß man sich fragen, inwieweit die beobachteten Verhältnisse auch für die benachbarten Pilzgattungen zutreffen, und ob nicht ein vergleichendes Studium verschiedener Hefen in Beziehung auf Aziditäts- und andere Bedingungen weitere Gesichtspunkte über die Zusammensetzung und Bildung der Enzyme zu liefern imstande sind.



Mycoderma, 500 mal vergr.

Es ist der Zweck der hier mitzuteilenden Versuche, einen typischen Repräsentanten der Gruppe Mycoderma[1]) in biochemischer Hinsicht mit den gewöhnlichen Kulturhefen zu vergleichen und frühere Beobachtungen möglichst durch quantitative Angaben zu erweitern.

Das zu vorliegenden Untersuchungen angewandte Material wurde aus einer Kahmhaut isoliert, die auf Bierwürze — in Kulturkolben für gewöhnliche Hefe — im Biochemischen Laboratorium der Hochschule

---

[1]) Bezüglich der Literatur über die Mycodermen verweise ich auf Lafars Handb. f. techn. Mykologie, Bd. IV S. 302 ff. (Aufl. 1900—1907).

Stockholm auftrat. Die Reinzüchtung geschah durch Verdünnung in Würzegelatine und wurde in dem Bakteriologischen Laboratorium für Landwirtschaftliches Versuchswesen (Experimentalfältet) ausgeführt. Die so erhaltene Hefe war eine typische Mycoderma: ausschließlich langgestreckte, an beiden Enden abgerundete Zellen mit den für Mycodermahefen so charakteristischen lichtbrechenden Körnchen. Sie wuchs nur an der Oberfläche der Nährlösung, eine gefaltete Haut bildend[1]). Wenn die Kulturkolben kräftig durchschüttelt wurden, sank ein großer Teil der Zellen zu Boden, aber Stücke der Haut schwammen wegen der eingeschlossenen Luftblasen empor und bildeten in einigen Tagen eine neue Haut. Die gesunkenen Zellen wuchsen nicht, waren aber in voller



Mycoderma-Riesenkolonie, 4 Wochen alt, nat. Größe.



Mycodermahefe, Haut auf Würze, etwas verkleinert.

Lebenstätigkeit, was sowohl durch Überimpfen wie durch Gärung mit ausschließlich solchen Zellen festgestellt wurde. Wie durch einen besonderen Versuch gezeigt wurde, bedarf Mycoderma für ihren Zuwachs reichlicher Zufuhr von Sauerstoff.

Abzentrifugiert, zeigte die Mycoderma etwa dieselbe graubraune bis braune Farbe wie Bierunterhefen, getrocknet war sie beinahe schwarzbraun[2]).

---

[1]) Siehe die photographischen Abbildungen. Diese sind von Herrn Assistenten Sandberg an dem Bakteriologischen Laboratorium, Experimentalfältet, ausgeführt, wofür ich hier meinen herzlichen Dank ausspreche.

[2]) Eine Analyse zeigte einen Aschengehalt von 7,33 % und einen Stickstoffgehalt (nach Kjeldahl bestimmt) von 6,20 % (berechnet auf Trockengewicht).

Die Zellenzahl pro Gramm Trockengewicht (im Zeißschen Okularnetzmikrometer mit Zählkammer unter dem Mikroskop bei einer Vergrößerung von ca. 500 gerechnet) war in drei verschiedenen Proben

$0,456 \cdot 10^{11}$; $0,472 \cdot 10^{11}$; $0,441 \cdot 10^{11}$; in Mittel also $0,456 \cdot 10^{11}$.

Zum Vergleich kann erwähnt werden, daß in gewöhnlicher untergäriger Bierhefe $0,16 \cdot 10^{11}$ und in einer besonders kleinzelligen Torulahefe $2,65 \cdot 10^{11}$ (Dr. O. Svanberg) Zellen pro Gramm Trockengewicht vorhanden sind.

Die untersuchte Mycoderma bildete auf Gipsplatten bei 28° während 3 Tagen keine Sporen.

Zur Herstellung größerer Mengen wurde die Hefe in Bierwürze gezüchtet. Hierzu wurde eine ungehopfte Würze von 13—14° Balling aus der Sct. Eriksbrauerei, Stockholm, verwendet. Die Azidität war vor der Sterilisierung $P_H = 5,6—5,7$ und nach derselben $P_H = 5,4—5,5$[1]. Nachdem ca. 2 g Mycodermahefe (Trockengewicht) pro Liter in der Würze herangewachsen war — nach Verlauf von etwa 8 Tagen — war die Azidität auf $P_H = 4,5$ gesunken.

Die Würze wurde in 1-l-Erlenmeyerkolben verteilt, in jeden ca. 1/2 l, und durch halbstündiges Sieden an zwei aufeinander folgenden Tagen sterilisiert. Nach Einimpfung einer Platinöse der Stammkultur wurden die Kolben in den Thermostaten bei 26—28° gestellt.

Für enzymatische Versuche wurde der Kolbeninhalt in der elektrischen Zentrifuge bei 1500—2000 Umdrehungen pro Minute während 10 Minuten abgeschleudert. Die abzentrifugierte Hefenmasse wurde mit Wasser verrührt und noch einmal abgeschleudert, um sie vollständig von Würze zu reinigen. Danach wurde sie wieder mit Wasser angerührt und in einem Teil dieser Hefeaufschlemmung durch Abdampfen und Trocknen die Hefemenge bestimmt, der übrige Teil derselben wurde zum Versuch verwendet.

Bestimmung des Aziditätsoptimums des Zuwachses.

Hierzu wurde eine synthetische Nährlösung von folgender Zusammensetzung verwendet:

Glukose 2%	$MgSO_4$ 0,2%
Asparagin 0,3%	Dest. Wasser
KH_2PO_4 5%	

---

[1]) Die Aziditätsbestimmungen wurden nach Sörensens elektrometrischer Methode ausgeführt (Biochem. Zeitschr. **21**, 131, 1909).

Die Zuwachsgeschwindigkeit war in dieser Nährlösung — bei gleicher Azidität — etwa dieselbe wie in Würze. Es wurden zwei Lösungen vorbereitet, die eine mit Salzsäure bis $P_H = 1,0$, die andere mit Kalilauge bis $P_H = 7,0$ versetzt. Von diesen beiden Lösungen wurden dann angemessene Mengen vermischt, um die gewünschten Aziditäten zu erhalten.

Die Lösungen wurden auf 50-ccm-Erlenmeyerkolben verteilt, in jedem 10 ccm, und durch einstündiges Erhitzen im Wasserbade sterilisiert. Zu jeder Azidität wurden 4 Kolben vorbereitet. Sie wurden dann mit je 0,1 ccm einer Hefeaufschlemmung geimpft, die ca. $4 \cdot 10^{10}$ Zellen pro mm^3, d. h. 10 Zellen pro jedes kleine Viereck der Zählkammer, enthielt. Die Kolben wurden in Wasserthermostat bei 28^0 gestellt.

In etwa 24 Stunden hatte sich eine dünne Haut ausgebildet, oft aber nicht die ganze Oberfläche bedeckend. Zur Bestimmung der Zellenzahl wurde der Kolben umgeschüttelt, 5 ccm 2-n Schwefelsäure zugesetzt, die Lösung wenn nötig weiter verdünnt, und ein Tropfen derselben auf die Zählkammer mittels einer Pipette übergeführt. Hier wurden die Zellenzahlen in 30—50 Vierecken gezählt, welches Verfahren mit so vielen Tropfen wiederholt wurde, daß ein guter Mittelwert (Fehler$<5^0/_0$) erhalten werden konnte. Nach 2—4 Stunden wurde der zweite Kolben derselben Reihe ausgenommen usw. Vor dem Zusatz der Schwefelsäure wurde die Azidität bestimmt.

Nach Meißner[1]) kann Mycoderma sowohl säurezerstörend wie säurebildend wirken. Dies wurde hier bestätigt, denn wenn die Anfangsazidität geringer als $P_H = 2,5$ war, sank dieselbe während des Wachstums, es hatte also eine Säurezerstörung stattgefunden. In übrigen Fällen aber, wenn $P_H > 2,5$ war, hatte sich mehr Säure gebildet.

In den folgenden Tabellen bedeutet a die Zellenzahl pro jedes Viereck der Zählkammer, auf unverdünnte Hefekulturen umgerechnet. K bedeutet die „Zuwachskonstante", d. h. die Zahl, die angibt, in welcher Zeit sich die Zellenzahl verdoppelt, und ist den Kurven der Tafel I entnommen. T bedeutet die Anzahl der Stunden nach der Impfung. Außer diesen 10 Versuchsreihen wurde eine mit $P_H = 1,00$ vorbereitet, hier konnte aber gar keine Vermehrung der eingeimpften Zellen wahrgenommen werden.

---

[1]) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 497.

Tabelle I.

1

T	P_H	a	K
24	1,49	11,6	—
28	1,59	16,4	50
31	1,79	20,0	47

2

T	P_H	a	K
24	1,80	14,0	—
26	1,81	20,1	19
28	1,87	27,4	23
31	1,89	40,0	25

3

T	P_H	a	K
21	2,0	12,3	—
23	2,0	24,0	11
25	2,0	42,0	13
27	2,0	—	—

4

T	P_H	a	K
24	2,08	18,0	—
26	2,27	36,5	11
28	2,29	69,0	11
31	2,42	(103,0)	—

5

T	P_H	a	K
18	2,30	1,5	—
24	2,32	10,2	11
42	2,37	(143,0)	—
46	2,40	(153,0)	—

6

T	P_H	a	K
21	2,80	14,5	—
23	2,80	23,1	14
25	2,80	—	—
27	2,80	53,0	23

7

T	P_H	a	K
18	3,20	2,0	—
24	3,07	6,4	18
42	3,05	86,4	22
46	3,05	144,0	25

8

T	P_H	a	K
18	4,20	3,3	—
24	4,08	6,8	27
42	4,05	84,0	25
46	4,00	130,2	26

9

T	P_H	a	K
18	5,90	3,1	—
24	5,65	6,2	31
42	5,45	69,3	26
46	5,36	110,0	28

10

T	P_H	a	K
18	7,09	2,0	—
24	6,66	4,0	30
42	6,49	31,8	30
46	—	53,0	26

Diesen Tabellen entsprechen die Kurven der Tafel I.

In der folgenden Tabelle sind die Mittelwerte der Aziditäten und die Zuwachskonstanten für jede Serie berechnet. In der Kurve der Tafel II sind die Resultate graphisch dargestellt.

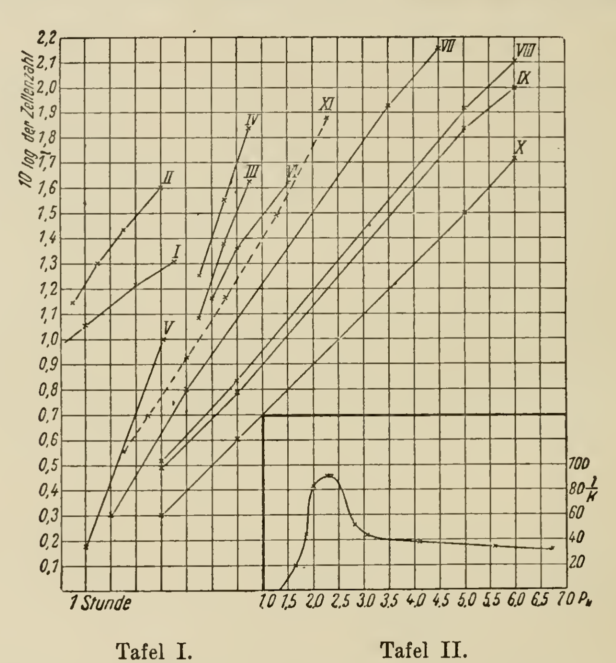
Tabelle II

P_H	1,64	1,86	2,00	2,28	2,35	2,80	3,09	4,08	5,59	6,75
K	49	22	12	11	11	19	22	26	28	29

Es zeigt sich also, daß das Aziditätsoptimum des Zuwachses bei P_H = 2,0—2,3 liegt. Das schwache Sinken der Kurve bei höheren

P_H-Werten läßt sich damit erklären, daß, da die Zellen in diesem P_H-Gebiet selbst Säure bilden, der Zelleninhalt hier eine größere Azidität haben muß als die umgebende Lösung.

Um zu entscheiden, ob Mycoderma bei reichlicher Luftzufuhr auch im Innern der Nährlösung zu wachsen vermag, wurde der folgende Versuch ausgeführt. Zwei 1-l-Standkolben wurden mit je 500 ccm der obenerwähnten Nährlösung beschickt. $P_H = 2,10$. Einer der Kolben wurde um 12 Uhr mittags, der andere um 8 Uhr nachm. geimpft. Dann wurde feuchte Luft, durch Watte filtriert, durch die Lösungen mittels



Tafel I. Tafel II.

der Wasserstrahlpumpe gesaugt. Temp. 28°. In dem ersten Kolben wurde die Zellenzahl nach 24, 29 und 31 Stunden bestimmt, in dem zweiten nach 34 und 38 Stunden. Es ergaben sich die folgenden Zellenzahlen:

T	24	29	31	34	38
a	5,0	8,7	14,8	31,0	74,8

Dies ist die gestrichelte Kurve der Tafel I. Ihre Zuwachskonstante ist 18. Es zeigt sich also, daß Mycoderma bei Luftzufuhr ebensogut inmitten der Nährlösung wie an deren Oberfläche aussproßt.

Nach Beendung dieses Versuchs wurde durch die Kolben Kohlensäure geleitet. Es konnte — wie zu erwarten war — dabei keine Vermehrung der Zellen wahrgenommen werden.

Versuch zum Nachweis von Saccharase

100 ccm einer 8-prozentigen Rohrzuckerlösung, 0,5 g primäres Kaliumphosphat enthaltend, wurden mit 1 g Mycoderma (als Trockengewicht berechnet) versetzt. $P_H = 4{,}8$. Hieraus wurden von Zeit zu Zeit 10 ccm ausgenommen, in 10 ccm Sodalösung (5%) einpipettiert und filtriert. Danach wurde die Drehung im Polarisationsapparat (Na-Licht) im 5-cm-Rohr bestimmt. Temp. 18°.

Zeit	Drehung
13. 3. 1,30 nachm.	1,44
„ „ 4,30 „	1,45
„ „ 6,30 „	1,45
14. 3. 11,30 vorm.	1,35
„ „ 5,30 nachm.	1,37

Die Mycoderma enthält also keine Saccharase.

Gärungsversuche.

Zuerst wurde das Gärvermögen gegen verschiedene Zuckerarten in Einhornschen Gärröhrchen bestimmt. Die Röhrchen wurden mit der obenerwähnten Nährlösung angefüllt, die aber statt der Glukose mit 2% Fruktose, Galaktose, Maltose, Laktose und Saccharose — in verschiedenen Versuchen — versetzt worden war. Die Röhrchen wurden mit je einer Platinöse der Reinkultur geimpft und 9 Tage im Thermostat bei 28° stehen gelassen. In dieser Zeit war in der Fruktoseröhre eine große Gasblase entstanden, in der Galaktoseröhre eine kleinere (etwa 0,5 ccm), in der Maltoseröhre war die Gasblase klein, und in den übrigen Röhren war gar keine Gasblase vorhanden. In den beiden erstgenannten Röhren war der Zuwachs gut, in der dritten schwächer, aber noch deutlich, in der Saccharose- und Laktoselösung hatte sich die Mycoderma gar nicht vermehrt.

Zu den eigentlichen Gärversuchen wurde Glukose verwendet. Die Versuchskolben wurden mittels Kapillarröhrchen mit Quecksilberbüretten verbunden und die entweichende Kohlensäure volumetrisch bestimmt. Die Kolben wurden in den Wasserthermostat bei 28° eingesenkt.

Vorversuch

75 ccm 5% Phosphatlösung, 25 ccm Hefeaufschlemmung (0,5 g Trockengewicht enthaltend), 0,8 g Glukose. $P_H = 2,56$.

Tabelle III

Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B	Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B
1/2	7	7,5	3	48,8	50,0
1	21,6	22,0	3 1/2	52,0	54,1
1 1/2	34,2	34,0	4	56,0	59,0
2	40,0	39,5	4 1/2	68,0	70,0
2 1/2	46,2	47,3	21	95,0	95,1

Die Gärgeschwindigkeit war also bedeutend kleiner als bei gewöhnlicher Hefe. Zum näheren Vergleich wurde der folgende Versuch ausgeführt: Vier Kolben wurden vorbereitet, in jeden kam 75 ccm 5% Phosphatlösung, 3 g Glukose und 25 ccm Hefeaufschlemmung, die in A und B Mycoderma, in C und D Saccharomyces von der bei dem hiesigen Biochemischen Laboratorium angewandten Rasse SB II aus Södra Jästfabriken, Stockholm, enthielt. Die Zellenzahl war in A und B $0,44 \cdot 10^{10}$ in C und D $0,47 \cdot 10^{10}$. $P_H = 4,38$.

Tabelle IV

Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B	ccm Kohlensäure C	ccm Kohlensäure D
1/2	3,1	2,1	30,0	33,0
1	5,6	5,0	45,0	48,0
2	12,0	11,1	74,5	80,3
3	17,5	17,0	105,2	109,0
4	21,0	22,2	143,3	140,2
5	27,0	29,6	189,0	193,0
8	45,6	48,2	271,3	269,4

Zellenzahl nach dem Versuch:

A	B	C	D
$0,48 \cdot 10^{10}$	$0,49 \cdot 10^{10}$	$0,98 \cdot 10^{10}$	$0,97 \cdot 10^{10}$

Die Kulturhefe hatte sich also während der Gärung viel mehr als die Mycoderma vermehrt, was ja übrigens zu erwarten war, da die Mycoderma nur an der Oberfläche wächst und die häufige Umschüttelung die Hautbildung stören muß.

Da Mycoderma $0,46 \cdot 10^{11}$ und die fragliche Heferasse $0,30 \cdot 10^{11}$ Zellen pro Gramm Trockengewicht hat, so hat A und B 0,1 g, in C und D in Mittel 0,3 g Hefe (als Trockengewicht), die Gärung hervorruft. Berücksichtigt man dies, so findet man die Gärgeschwindigkeit bei Mycoderma etwa halb so groß wie bei Saccharomyces.

Gärversuch I[1])

70 ccm 5% Glukoselösung, 2 g Phosphat, 25 ccm Hefeaufschlemmung (0,2 g Trockengewicht). P_H A und B 4,81, C und D 1,84.

Tabelle V

Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D
½	7,9	8,1	7,6	6,7	25	389,3	397,3	306,5	327,9
1	13,4	13,7	12,1	11,9	26	419,3	421,3	352,1	355,9
3½	36,5	33,6	30,0	29,1	27	449,3	451,3	366,7	364,9
5½	57,8	56,9	53,3	53,5	28	460,3	461,8	371,6	389,6
7	77,8	77,9	71,0	68,6	29	490,8	500,8	415,6	421,4
8	95,4	97,0	92,9	95,8	30	525,8	531,9	450,9	454,1
9	109,1	110,7	104,5	107,6	33	570,3	575,1	564,9	501,5
10	127,1	134,5	120,5	123,5	36	630,3	659,1	595,9	529,4
11	140,8	149,3	135,3	137,4	48	698,3	713,1	622,9	585,6
12	157,1	166,5	147,4	151,6	51	736,9	751,4	648,4	609,8
13	169,8	183,8	160,3	163,4	54	775,4	784,4	666,7	631,0
14	179,8	191,3	169,5	174,4	56	799,2	808,6	690,7	649,5
22½	339,8	356,3	269,0	304,4	57	811,4	822,6	730,7	669,5
23½	361,3	376,3	286,5	312,9	72	838,4	875,6	735,8	716,7
24	372,3	384,3	295,0	319,9					

P_H nach dem Versuch in A 3,42 B 3,40 C 1,90 D 1,90

Nach 13 Stunden wurde 1 ccm aus jedem Kolben herausgenommen und der Zuckergehalt nach Bertrand[2]) bestimmt.

Es war verbraucht in	A	B	C	D
g Glukose	0,90	0,92	0,73	0,83

Nach 72 Stunden, wenn die Gärung vermutlich zu Ende war, wurde die Zuckermenge bestimmt, ebenso wurde aus 50 ccm der Lösung der Alkohol abdestilliert und pyknometrisch bestimmt. In A und B war kein Zucker mehr vorhanden, in C und D resp. 0,20 und 0,23 g.

	A g	B g	C g	D g
Vergorener Zucker	3,50	3,50	3,30	3,27
Gebildeter Alkohol	1,606	1,599	1,46	1,40
Gebildete Kohlensäure	1,65	1,71	1,44	1,40

[1]) Bei diesem Versuch war der Kulturkolben, aus dem die Hefe zu A und C genommen war, am vorhergehenden Abend geschüttelt, so daß die Zellen alle zum Boden sanken, die Hefe zu B und D stammte dagegen aus einer ungestörten Haut.

[2]) Abderhalden, Handb. d. Biochem. Arbeitsmethoden Bd. II.

Anzahl Prozente des verbrauchten Zuckers gefunden als

	A	B	C	D
Kohlensäure	48,2	48,9	44,0	42,8
Alkohol	45,9	45,7	44,3	42,8

Es wurde also der weitaus größte Teil des Zuckers als Alkohol und Kohlensäure wiedergefunden, und zwar in denselben Proportionen wie bei den gewöhnlichen Kulturhefen. Der Gärungsverlauf kann also als ein normaler bezeichnet werden. Eine Weiterverbrennung des Alkohols hatte nicht stattgefunden, was teils darauf, daß die Luft keinen Zutritt hatte, teils auf der kurzen Versuchszeit beruhen kann.

Bestimmung des Aziditätsoptimums der Gärung

I. Mit Stickstoffnahrung

Versuch I

75 ccm 3% Glukoselösung, 1 g Phosphat enthaltend, 10 ccm Hefewasser, 15 ccm Mycodermaaufschlemmung (0,5 g Trockengewicht).

P_H in	A	B	C
vor dem Versuch	1,00	6,80	7,80
nach 9 Stunden	1,12	6,62	6,86
„ 24 „	1,24	6,44	6,80

Tabelle VI

	ccm Kohlensäure				ccm Kohlensäure		
Stunden	A	B	C	Stunden	A	B	C
1	12	13	11	8	160	260	223
2	22	33	19	9	180	287	263
3	41	54	32	10	200	308	293
4	66	86	59	22	250	340	338
6	119	186	147	24	258	343	341
7	135	231	185				

Versuch II

Zusammensetzung der Lösung wie im vorhergehenden Versuch.

P_H in	A	B	C	D
vor dem Versuch	1,66	1,83	4,15	5,70
nach 8 Stunden	1,68	2,00	3,65	5,40
„ 24 „	1,72	2,03	3,45	5,20

Tabelle VII

Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D
1	18	28	32	27	6	161	224	236	200
2	51	57	77	69	7	168	232	248	214
3	94	111	139	104	8	172	240	257	224
4	129	160	191	147	24	186	300	302	269

Die CO_2-Kurven dieser 7 Gärungen sind in der Tafel III eingezeichnet. Es zeigt sich zunächst, daß die Gärgeschwindigkeit bei $P_H = 4{,}15$—$3{,}65$ am größten ist. Da die Azidität nicht konstant gehalten werden konnte, und sich bei größeren Anfangswerten von P_H stark änderte, verlaufen die Gärungen nicht mit beschleunigter Geschwindigkeit. In den ersten vier Stunden sind aber, wie aus dem beinahe geradlinigen Verlauf der Kurve hervorgeht, die Geschwindigkeitsänderungen wegen der Änderung der Azidität recht unbedeutend. Ich habe deshalb die Resultate dieser Gärversuche auch in der Weise aufgezeichnet, Tafel V, daß die in dieser Zeit gebildeten Kohlensäuremengen als Ordinaten, die entsprechendeu Aziditäten als Abszissen dargestellt sind. Es zeigt sich ein Gärungsoptimum bei $P_H = 3{,}0$—$4{,}5$.

II. Ohne Stickstoffnahrung

Da zu erwarten war, daß Stickstoffmangel einen bedeutenden Einfluß auf die Gärgeschwindigkeit ausübt, wurden einige Versuche ohne Zusatz von Hefewasser ausgeführt. Im übrigen war die Versuchsanordnung dieselbe wie in den vorigen Versuchen.

Versuch I

P_H	A	B	C
vor dem Versuch	1,00	2,10	4,20
nach 45 Stunden	1,18	2,10	3,80

Tabelle VIII

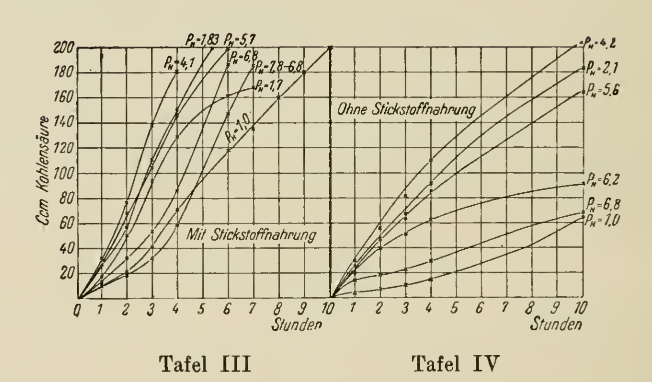
Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C
1	4,5	26	30	22	97	224	226
2	5,5	49	56	24	102	228	230
3	10	68	81	28	110	232	233
4	15	91	110	30	116	235	238
10	64	182	204	45	127	240	240

Versuch II

P_H	A	B	C
vor dem Versuch	5,60	6,20	7,80
nach 45 Stunden	4,80	5,95	7,40

Tabelle IX

Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C
1	21	20	15	21	213	138	94
2	47	40	18	24	218	150	116
3	63	51	23	30	225	191	159
4	86	62	30	45	230	220	195
10	163	90	66				



Tafel III Tafel IV

Es zeigt sich also, daß die Gärung durch Stickstoffmangel erheblich verzögert wird. Die größte Geschwindigkeit liegt bei P_H = 4,2—3,8, ganz wie bei den Gärungen bei Stickstoffzufuhr. Die zu diesen letzteren Versuchen gehörenden Kurven sind in Tafel V gestrichelt. Ihre CO_2-Kurven sind in Tafel IV aufgenommen.

Selbstgärung der Hefe

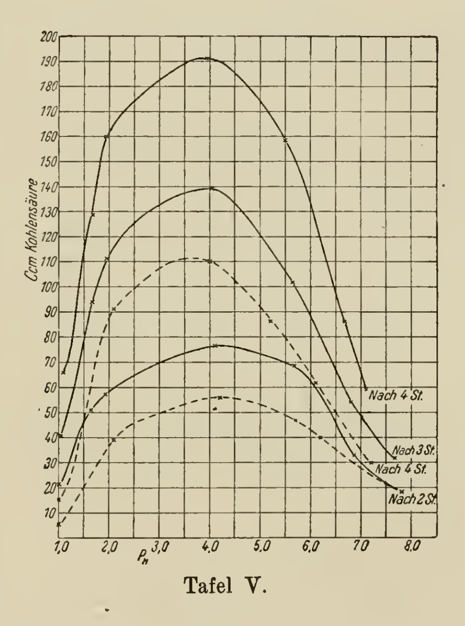
Für die folgenden Versuche über die Vergärung von Milchsäure, Maltose, Galaktose und Mannose war es notwendig, die Größe der Kohlensäureentwicklung, die von Selbstgärung herrühren konnte, zu kennen. Es wurde darum der folgende Versuch ausgeführt.

90 ccm 1 % Phosphatlösung, 10 ccm Aufschlemmung sorgfältig gewaschener Hefe (= 0,5 g Trockengewicht).

Tabelle X

Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B	Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B
½	2,0	1,4	9	12,1	14,9
1	2,6	2,5	21	12,1	14,9
2	6,2	6,5	23	12,1	14,9
3	7,4	8,9			

Bei schwacher Kohlensäureentwicklung, wie sie bei den folgenden Versuchen zu erwarten war, konnte diese Kohlensäuremenge nicht vernachlässigt werden. Es wurde darum die Hefe vor den Versuchen 24 Stunden mit der Phosphatlösung im Thermostat stehen gelassen, um die Selbstgärung zu Ende zu bringen.



Tafel V.

Versuch zur Vergärung von Mannose

Vorversuch

25 ccm 5% Phosphatlösung, 5 ccm Hefeaufschlemmung (= 0,5 g Trockengewicht), 0,5 g Mannose. $P_H = 4{,}3$.

Stunden	ccm Kohlensäure
1	10,2
2	16,6
3	19,0
4	26,7
5	32,1
6	37,9
7	43,2
8	51,5
9	57,5
22	113,0

Die Mannose wurde also recht gut vergoren. In folgenden Versuchen wurden die Gärgeschwindigkeiten gegen Mannose und Glukose verglichen.

Versuch I

25 ccm 5% Phosphatlösung, 5 ccm Hefeaufschlemmung (= 0,3 g Trockengewicht), 0,5 g Glukose resp. Mannose. $P_H = 4{,}3$.

Tabelle XI

Stunden	ccm Kohlensäure Mit Glukose A	B	Mit Mannose C	D	Stunden	ccm Kohlensäure Mit Glukose A	B	Mit Mannose C	D
$^1/_2$	4	5,5	3,5	4	7	68	71	67,5	50,5
1	7	9	7,5	8,5	23	114	109	123	108,5
2	11	16	12	13	24	118	113	129	114,5
3	20	25	19	17,5	25	120	115	130	122,5
4	27,5	31	26	21	26	121	116	130,5	122,5
5	38	43	35,5	26	27	121	116,5		
6	49,5	54	49,5	33					

Versuch II

25 ccm 5% Phosphatlösung, 5 ccm Hefeaufschlemmung (= 0,3 g Trockengewicht) 10 ccm Hefewasser, 1 g Glukose resp. Mannose. $P_H = 4,3$.

Tabelle XII

Stunden	ccm Kohlensäure Mit Glukose A	B	Mit Mannose C	D	Stunden	ccm Kohlensäure Mit Glukose A	B	Mit Mannose C	D
1	13	15	3,5	4,5	6	116	120	74	72,5
$1^1/_2$	18	20	15	17	$7^1/_2$	146	140	92	90,5
2	25	26	21	20	8	160	156	101,5	100,5
$3^1/_2$	33	35	26	29,5	12	220	210	130,5	128
4	70	71,5	41,5	38	24	245	238	220,5	240,1
5	80	93,5	62	66					

Nach der Gärung wurde aus der ganzen Flüssigkeit der Alkohol abdestilliert und pyknometrisch bestimmt.

Es wurde gefunden in	A	B	C	D
g Alkohol	0,44	0,45	0,42	0,44

Anzahl Prozent des verbrauchten Zuckers gefunden als

Alkohol	44	45	42	44
Kohlensäure	48,1	46,65	43,4	47,1

Die Mannose wird also von Mycoderma regelmäßig und mit etwa derselben Geschwindigkeit wie Glukose vergoren, und die Gärung wird in gewöhnlicher Weise bei Zufuhr von Stickstoffnahrung beschleunigt.

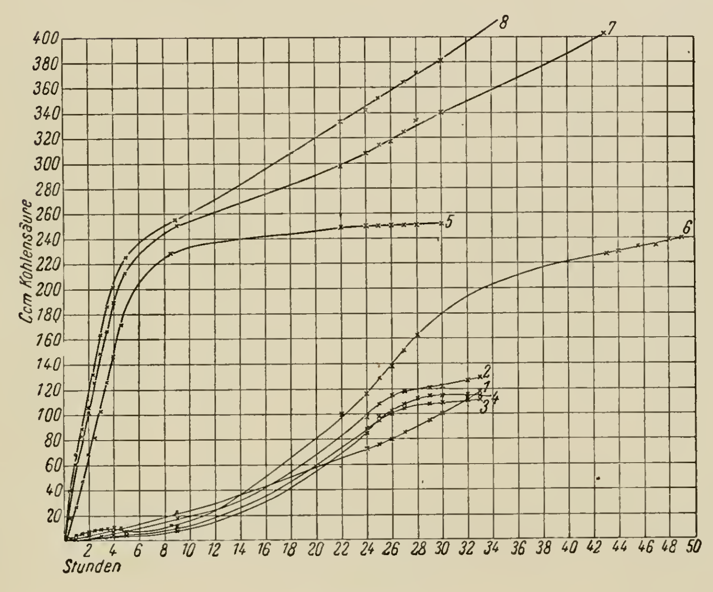
Versuch zur Vergärung von Maltose

Versuch I

75 ccm 5% Phosphatlösung, 15 ccm Hefeaufschlemmung (= 0,5 g Trockengewicht), 0,5 g Maltose, 0,5 g Pepton. $P_H = 4,96$.

Tabelle XIII

Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D
1	2,5	4,5	3,0	2,5	25	78,0	109,5	96,2	99,3
2	3,5	6,0	3,5	3,8	26	81,0	116,0	100,7	102,4
3	3,5	7,0	3,8	4,5	27	86,5	118,5	107,1	109,5
4	4,5	7,5	4,5	5,0	29	96,5	121,2	108,9	113,4
5	6,0	7,5	5,3	5,5	30	102,5	122,3	110,1	115,2
9	23,5	18,0	10,2	8,6	32	115,5	128,1	112,2	117,1
24	73,0	99,1	88,9	86,0	33	118,5	130,1	112,9	117,9



Tafel VI.

Nach dem Versuch wurde aus 50 ccm der Flüssigkeit der Alkohol abdestilliert und pyknometrisch bestimmt.

Es wurde gefunden in	A	B	C	D
g Alkohol	0,22	0,23	0,22	0,21

Anzahl Prozent des verbrauchten Zuckers gefunden als

Alkohol	44	46	44	42
Kohlensäure	46,4	(52,2?)	44,4	46,3

Dieser Versuch entspricht den Kurven 1—4 der Tafel VI. Es zeigt sich also, daß die Gärgeschwindigkeit im Anfang der Gärung sehr klein ist, um später größer und größer zu werden. Es scheint, als ob

die Hefe sich an die Vergärung von Maltose langsam gewöhne. Um dies näher zu untersuchen, wurde der folgende Versuch ausgeführt.

Versuch II

75 ccm 5% Phosphatlösung, 20 ccm Hefeaufschlemmung (= 0,5 g Trockengewicht), 5 ccm Hefewasser. $P_H = 4,96$.

A 1 g Glukose
B 1 g Maltose
C 1 g Glukose + 1 g Maltose
D „ „ „ „ „ „

Tabelle XIV

Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D	Stunden	ccm Kohlensäure A	B	C	D
1/2	18	3	40	40	25	250	129	315	352
1	27	5	61	69	26	251	138	318	357
1 1/2	48	7	83	89	27	251,5	151,5	325	365
2	69	8	102	108	28	252	163	334	372
2 1/2	82	9	126	132	30	252,5	179	340	382
3	104	9,5	149	164	43	253	228	418	468
3 1/2	127	10	167	187	44	253	231,5	428	478
4	147	10,5	190	202	45 1/2	255	234	441	494
4 1/2	172	11	213	225	47	258	235	456	501
8 1/2	229	12	251	255	48	258	239	467	507
22	249	100	298	333	49	258	241	473	510
24	250	117	308	342	53	258	243,5	474	511

Beim Vergleich der entsprechenden Gärkurven (5—8 der Tafel VI) zeigt es sich, daß man die Gärung von Glukose und Maltose zusammen als rein additiv von der Vergärung der beiden Zuckerarten zusammengesetzt betrachten kann.

Versuch zur Assimilation von Maltose, Mannose und Galaktose

Sowohl in Würze wie in einer ausschließlich Maltose enthaltenden synthetischen Nährlösung wächst die Mycoderma vorzüglich. In den Gärkolben, die eine 5% Phosphatlösung, etwas Pepton und 0,5 g Maltose enthielten, bildete sich schon beim Stehen über Nacht eine Haut auf der Oberfläche. Um die Assimilation von verschiedenen Zuckerarten näher zu untersuchen, wurde der folgende Versuch ausgeführt: Drei Kolben (Erlenmeyerkolben à 200 ccm) wurden mit 100 ccm einer Nährlösung von den S. 3 erwähnten Zusammensetzungen angefüllt, die aber außer der Glukose auch 1 g von resp. Maltose, Mannose und Galaktose

enthielt. Die Kolben wurden mit je einer Platinöse Mycoderma geimpft und dann 10 Tage stehen gelassen. Durch die Lösungen wurde durch Watte filtrierte Luft geleitet. Nach 10 Tagen wurde der Zuckergehalt bestimmt. Es ergab sich, daß die Maltose und die Mannose (ebenso wie die Glukose) fast vollständig verschwunden waren, nur ein sehr kleiner Rest (< 10 mg) war zugegen. In der Galaktoselösung aber war die Zuckermenge 1,08 g. Die Mycoderma kann also sowohl Maltose und Mannose wie Glukose assimilieren, Galaktose aber nicht.

Wie durch einen besonderen Versuch bewiesen wurde, kann die Mycoderma auch nicht die Galaktose vergären, es bildete sich in einer Lösung mit 25 ccm 5% Phosphat, 0,5 g Hefe (Trockengewicht), 10 ccm Hefewasser und 1 g Galaktose in 36 Stunden überhaupt keine Kohlensäure.

Versuch zur Vergärung von Milchsäure

Da die Kohlensäureentwicklung hier sehr gering war — wie bei einem wegen seiner Unsicherheit hier nicht mitzuteilenden Vorversuch festgestellt wurde — wurden diese Versuche besonders sorgfältig ausgeführt. Es wurde vorher zugesehen, daß die Hefe im Versuchskolben mit der Phosphatlösung keine Kohlensäure entwickelte, es wurde die Flüssigkeit vorher mit Kohlensäure gesättigt, und die Temperatur wurde genau konstant gehalten.

Versuch I

20 ccm 1% Phosphatlösung, 5 ccm Mycodermaaufschlemmung (0,5 g Trockengewicht), 5 ccm 5% Milchsäure. A und B ohne Toluol, in C und D 0,5 ccm Toluol. $P_H = 3,9$.

Tabelle XV

	ccm Kohlensäure					ccm Kohlensäure			
Stunden	A	B	C	D	Stunden	A	B	C	D
$1/2$	0,5	0,5	0,5	0,2	3	5,0	4,3	6,7	7,2
$3/4$	1,5	1,1	3,5	3,9	$3^1/_2$	6,0	5,2	6,9	7,5
1	1,9	1,7	4,1	4,5	$4^1/_4$	6,2	5,6	8,2	7,8
$1^1/_4$	2,5	2,2	4,6	5,0	6	6,9	5,8	8,6	8,7
2	4,0	3,0	5,5	6,6	7	7,0	6,0	8,7	8,8
$2^1/_2$	4,6	3,6	5,8	7,0					

Die Milchsäure wurde also langsam unter Gasentwicklung zersetzt. Das Toluol hat den Vorgang beschleunigt, eben wie dies bei der Vergärung von Brenztraubensäure durch gewöhnliche Hefe der Fall ist[1]).

[1]) Euler und Löwenhamn, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 97, 279, 1916.

Versuch II

80 ccm 1 % Phosphatlösung, 15 ccm Hefeaufschlemmung (0,5 g Trockengewicht), 20 ccm 5 % Milchsäure. $P_H = 4,0$.

Tabelle XVI

Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B	Stunden	ccm Kohlensäure A	ccm Kohlensäure B
$2^1/_2$	3,5	5,0	$27^1/_2$	20,1	21,1
$3^3/_4$	4,0	6,0	48	28,1	29,1
$4^3/_4$	4,5	6,5	72	31,1	33,1
6	5,5	8,0	96	31,1	33,1
26	18,6	19,8			

	A	B
Gebildete Kohlensäure	0,650 g	0,655 g
„ Alkohol	0,0 g	0,01 g

Es war also aus der Milchsäure gar kein Alkohol, sondern nur Kohlensäure gebildet. (Es mag erwähnt werden, daß die Reaktion sich hier unter Luftausschluß vollzog, sonst wäre vermutlich die Reaktionsgeschwindigkeit größer gewesen.) Auch bei dieser Hefe wird also die Milchsäure keineswegs durch irgend eine „Lactacidase" alkoholisch vergoren, sondern durch die anderen Enzyme der Hefe zersetzt.

Katalaseversuch

Diese Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

40 ccm 1 % Kaliumphosphatlösung wurde mit 50 ccm 0,015-n-Wasserstoffsuperoxydlösung vermischt und dann 10 ccm einer Hefeaufschlemmung zugesetzt. (In einem Teil der Hefeaufschlemmung war, wie erwähnt, das Trockengewicht bestimmt, und die übrige Aufschlemmung verdünnt, so daß 10 ccm derselben der gewünschten Hefemenge entsprachen.) Mit bestimmten Zwischenzeiten wurden 5 (selten 10) ccm herausgenommen, in der gleichen Menge 2-n-Schwefelsäure einpipettiert und mit 0,022-n-Kaliumpermanganat titriert. Wie G. Phragmen[1]) gezeigt hat, verläuft die Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds durch lebende Hefe nach der für monomolekulare Reaktionen geltenden Gleichung. Die Reaktionskonstante kann also direkt aus den bei der Titrierung verbrauchten Permanganatmengen berechnet werden.

Zuerst wurden einige Versuche über den Einfluß der Azidität ausgeführt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt

[1]) Medd. fr. K. Vet. Akad.: s. Nobelinst., Bd. 5, No. 22, 1918.

worden. K = Reaktionskonstante × 10^4. Temp. 18°. 0,1 g Hefe (als Trockengewicht berechnet).

Tabelle XVII

P_H	1,26		3,8		4,3		5,4		6,2		7,8	
Min.	ccm	K	ccm	K	ccm	K	ccm	K	ccm	K	ccm	K
0	4,6	—	4,85	—	4,45	—	4,15	—	4,7	—	4,2	—
15	4,25	23	4,35	31,5	3,95	35	3,4	51	3,65	73	2,55	144
30	3,39	21	3,9	31,5	3,35	39	2,9	46	2,9	66	1,5	154
45	3,65	23	3,45	35,5	2,95	45	2,45	49	2,3	67	0,9	148
60	3,4	20,5	3,1	31	2,6	36,5	2,1	45	1,8	71	—	—
K-Mittel		22		32		39		48		69		149

Es zeigt sich also, daß die Katalasewirkung bei höheren Werten von P_H am größten ist. Gleichzeitig wurden auch einige Blindproben ohne Hefe ausgeführt.

Tabelle XVIII

P_H	1,26	3,8	4,3	5,4	6,2	7,8
Min.	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
0	4,6	5,0	4,3	4,7	4,8	4,85
15	4,55	4,95	4,3	4,7	4,75	4,8
30	4,6	4,95	4,3	4,7	4,7	4,7
45	4,6	4,9	4,25	4,65	4,7	4,6
60	4,55	4,95	4,25	4,6	4,65	4,45

Tabelle XIX

Temp. 18°. P_H = 6,8

Min.	0,1 g Hefe		0,05 g Hefe		Min.	0,033 g Hefe	
	ccm	K	ccm	K		ccm	K
0	7,7	—	8,2	—	0	8,5	—
2	7,35	101	8,0	53,5	6	8,0	44
4	7,0	106	7,8	55	10	7,8	30
6	6,65	110	7,6	56	15	7,55	30
8	6,35	116	7,55	64	20	7,1	30
10	6,05	105	7,35	58	25	6,8	38
12	5,75	110	7,15	60	30	6,55	33
14	5,45	116	6,95	61,5	35	6,3	34
16	5,15	122	6,75	63,5	40	6,0	42
18	4,75	124	6,6	50	45	5,7	44
K-Mittel		112	$58 = \frac{1}{2} \cdot 116$			$36 = \frac{1}{3} \cdot 108$	

Die Tabelle XVIII zeigt, daß bei sämtlichen untersuchten Aziditäten die Selbstspaltung des Wasserstoffsuperoxyds zu gering ist, um die Resultate in merkbarem Grade beeinflußt zu haben, sie wird aber in der Nähe des Neutralpunktes größer. Die Versuche wurden deshalb nicht an der anderen Seite dieses Punktes fortgesetzt. Die folgenden Katalaseversuche wurden sämtlich bei $P_H = 6,0-7,0$ ausgeführt.

Tabelle XX

0,1 g Hefe (als Trockengewicht berechnet), Temp. 17°, $P_H = 6,8$

Min.	Ohne Toluol		0,5 ccm Toluol	
	ccm	K	ccm	K
0	4,85	—	4,0	—
5	4,2	125	3,55	104
10	3,65	120	3,15	104
16	3,1	118	2,8	102
21	2,7	120	2,45	116
26	2,35	121	2,15	113
31	2,05	119	1,9	109
36	1,8	111	1,65	122
41	1,6	102	1,45	112
46	1,4	116	1,3	95
K-Mittel		116		108

Tabelle XXI

0,1 g Hefe (als Trockengewicht berechnet), Temp. 17°, $P_H = 6,5$

Min.	Ohne Toluol		0,5 ccm Toluol	
	ccm	K	ccm	K
0	7,35	—	8,35	—
2	7,0	106	7,95	106
4	6,65	111	7,6	98
6	6,3	101	7,25	102
8	6,0	106	6,95	92
10	5,7	111	6,65	96
12	5,4	117	6,35	100
14	5,15	103	6,05	105
16	4,9	108	5,75	110
18	4,65	114	5,5	97
K-Mittel		108		100

Nach G. Phragmen (a. a. O.) ist die Reaktionskonstante der Katalasewirkung bei gewöhnlicher Hefe der Hefemenge direkt proportional. Dieser Befund wurde auch für die Mycoderma bestätigt.

Wie Euler und Blix[1]) gezeigt haben, wird bei gewöhnlicher Hefe die Katalasewirkung durch Toluol, Chloroform u. a. Protoplasmagifte erheblich gesteigert. Es war deshalb von Interesse zu untersuchen, ob dies auch bei Mycoderma der Fall sei. Wie aus den Tabellen hervorgeht, wurde aber bei Mycoderma die Katalasewirkung nicht durch Toluol beschleunigt.

Es konnte also eher eine ganz schwache Verzögerung, die jedoch innerhalb der Fehlergrenzen liegt, festgestellt werden. Dieser Befund wurde auch bei einem folgenden Versuch bestätigt, der den Zweck hatte, den Einfluß einer vorübergehenden Erhitzung der Hefe auf die Katalasewirkung zu untersuchen. Die Hefeaufschlemmung wurde mit der Phosphatlösung eine Stunde im Thermostat erhitzt, und nach Abkühlung auf

Tabelle XXII

	Auf 50° erhitzt. $P_H = 6{,}7$				Auf 53° erhitzt. $P_H = 6{,}6$			
Min.	Ohne Toluol		0,5 ccm Toluol		Ohne Toluol		0,5 ccm Toluol	
	ccm	K	ccm	K	ccm	K	ccm	K
0	9,4	—	10,6	—	11,3	—	10,8	—
3	8,6	129	9,75	107	9,6	240	9,4	201
6	7,85	132	9,05	108	8,0	264	8,2	199
9	7,15	136	8,3	125	6,6	279	7,15	195
12	6,55	127	7,7	109	5,45	277	6,25	195
15	5,95	139	7,1	117	4,85	269	5,35	225
18	5,4	140	6,6	106	4,0	260	4,6	219
K-Mittel		138		112		265		206

Tabelle XXIII

Auf 55° erhitzt. $P_H = 6{,}6$			Auf 56° erhitzt. $P_H = 6{,}68$				
Min.	Ohne Toluol		Min.	Ohne Toluol		0,5 ccm Toluol	
	ccm	K		ccm	K	ccm	K
0	8,2	—	0	8,7	—	9,0	—
8	7,0	86	2	8,6	25	8,9	24
14	6,2	88	4	8,5	26	8,85	12,5
17	5,85	84	6	8,4	26	8,8	13
20	5,5	86	8	8,35	13	8,7	25
22	5,3	81	12	8,3	6,5	8,6	12,5
26	4,9	86	30	8,2	5	8,5	3
K-Mittel		85	60	7,8	7	8,5	0

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 105, 83, 1919.

17° das Wasserstoffsuperoxyd und das Toluol zugesetzt. Die Aziditätszahlen wurden nach der Erhitzung ermittelt. Die Hefemenge war immer 0,1 g (als Trockengewicht).

Durch vorherige Erhitzung der Hefe bis 50—53° wurde also die Katalasewirkung erheblich gesteigert. Erhitzung bis 55° verzögerte dagegen die Wirkung, und nach Erhitzung bis 56° war sie beinahe auf Null gesunken.

Zusammenfassung

Es wurde aus einer Kahmhaut eine Mycodermahefe in Reinkultur gezüchtet und zu folgenden Bestimmungen verwendet:

1. Das Aziditätsoptimum des Zuwachses liegt bei $P_H = 2,0—2,3$. Die Mycodermahefe ist demnach als besonders azidophiler Mikroorganismus charakterisiert worden. Zum Vergleich kann angeführt werden, daß nach Euler und Svanberg[1]) das Optimum des Zuwachses für Brauereiunterhefe zu $P_H = 5$ festgestellt wurde, und nach Svanberg ist das Maximum der Aziditätstoleranz für Milchsäurebakterien verschiedener Art schon bei $P_H = 3,1—3,4$ erreicht.
2. Die Mycoderma enthält keine Saccharase.
3. Glukose wird in normaler Weise vergoren (im Mittel 90% des vergorenen Zuckers wurden als Alkohol und Kohlensäure — und zwar in äquivalenten Mengen — wiedergefunden).
4. Das Aziditätsoptimum der Gärung liegt bei $P_H = 3—4,5$.
5. Mannose wird regelmäßig und ziemlich rasch vergoren.
6. Maltose wird langsam, aber mit zunehmender Geschwindigkeit vergoren.
7. Galaktose wird weder vergoren noch assimiliert.
8. Milchsäure wird unter Kohlensäureentwicklung langsam zersetzt, wobei jedoch kein Alkohol gebildet wird.
9. Die Katalasewirkung der Mycoderma ist von etwa derselben Größe wie die der Kulturhefen. Sie konnte nicht durch Toluol, wohl aber durch vorhergehende Erhitzung der Hefe beschleunigt werden. Ihr Aziditätsoptimum liegt höher als bei 7,8.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem Lehrer, Herrn Professor H. v. Euler, der mir die Anregung zu dieser Arbeit gegeben hat, und Herrn Professor Chr. Barthel, dem ich das Material verdanke, meinen besten Dank auszusprechen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 105, 187, 1919.

Aktivierung der lebenden Hefe durch Hefenextrakt und durch Salze organischer Säuren

von

Hans Euler

Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.

Eingegangen am 12. 6. 19.

I. Aktivierung lebender Hefe durch Hefenextrakt resp. Hefenextrakt-Präparate

Euler und Berggren hatten 1912 die Beobachtung gemacht, daß die Gärung lebender Hefe durch einen Extrakt von Trockenhefe beschleunigt wird, und zwar hatten sie unter den von ihnen gewählten Bedingungen eine Beschleunigung von etwa 100% gefunden[1]).

Einerseits lag es nahe, diesen Befund mit der grundlegenden Entdeckung von Harden und Young in Beziehung zu setzen, daß bei der alkoholischen Gärung zwei Stoffe bezw. Stoffgruppen wesentlich beteiligt sind, nämlich das als Zymase bezeichnete enzymatische Agens und außerdem ein sog. Co-Enzym, das durch seine Kochbeständigkeit charakterisiert ist[2]).

Anderseits war a priori nicht zu erwarten, daß die Gärung durch lebende Hefe bei Zusatz von Co-Enzym-haltigem Hefenextrakt eine Beschleunigung erfahren würde, denn wie Harden und Young bei der Besprechung des Euler-Berggrenschen Befundes hervorhoben[3]), ist die lebende Hefenzelle, wenn überhaupt, so nur sehr unvollkommen für das Co-Enzym permeabel[4]).

Demgemäß ist die von Harden und Young aufgeworfene Frage berechtigt, ob die von Euler und Berggren gefundene Aktivierung nicht auf einen Zuwachs der Hefe zurückgeführt werden kann.

---

[1]) Euler u. Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 203; 1912.

[2]) Harden u. Young, Proc. Roy. Soc. B. 78, 369; 1906; weitere Literatur in A. Hardens Monographie: Alcoholic Fermentation, London 1914.

[3]) Harden u. Young, Biochemical Journal 7, 630; 1913.

[4]) Einige neuere bemerkenswerte Beobachtungen über die Kinetik der Gärung unter Einfluß des Hardenschen Co-Enzyms findet man bei O. Meyerhof, Zeitschr. f. physiol. Chem. 102, 185; 1918.

Wir haben seit der Zeit unserer ersten Versuche dem genannten Erscheinungsgebiet unsere Aufmerksamkeit zugewandt, und wollen nun auf die eingangs erwähnte Tatsache und einige ihrer Konsequenzen wieder zurückkommen. Es gilt also zunächst die Frage: Wird Gärung mittels einer gegebenen Menge lebender Hefe durch Zusatz von Co-Enzym bezw. eines anderen kochbeständigen Bestandteiles des Hefenextraktes zur Gärlösung beschleunigt[1])?

Versuchs-Methodik

Die Gärungsgeschwindigkeiten wurden fast durchweg durch Messung der entwickelten Kohlensäure festgestellt, die über Quecksilber in Büretten bei Unterdruck und unter Umschütteln zur Vermeidung von Übersättungen aufgefangen wurde. Die angegebenen Zahlen geben das nicht reduzierte Volumen der feuchten Kohlensäure an. Da es sich hier stets um Vergleiche handelt, die durchweg gleichzeitig und im Verlauf von wenigen Stunden ausgeführt wurden, so würde eine Reduktion auf Normaldruck und Normaltemperatur das Verhältnis der entwickelten Volumina vollkommen unverändert lassen, und also keinerlei Einfluß auf das Resultat ausüben.

Alle Versuche sind mit der Brennerei-Oberhefe S B II angestellt.

Großes Gewicht wurde auf die exakte Bestimmung der Zellenzahl gelegt. Es wurde ein mit den Gärungskolben absolut gleicher Parallelkolben in absolut identischer Weise gefüllt und behandelt, und aus ihm wurden zu Beginn und im Verlauf bezw. am Schluß des Versuchs nach Herstellung einer vollständig homogenen Emulsion Proben entnommen, mit denen nach geeigneter Verdünnung mit genau gemessenen Wassermengen der Thoma-Zeißsche Zählapparat gefüllt wurde. Es wurden jedesmal 40 Quadrate gezählt und zur Berechnung des Mittelwertes verwandt.

Versuch 1

Die Co-Enzymlösung wurde folgendermaßen hergestellt: In $^1/_2$ Liter kochenden Wassers wird 50 g frische Unterhefe eingetragen; die Emulsion wird $^1/_4$ Stunde im Kochen erhalten; dann wird heiß abfiltriert und das Filtrat wird nach Zugabe von Essigsäure bis zur Azidität $P_H = 5$

---

[1]) Die Frage, wie die Differenz zwischen der prozentischen Drehungsänderung $\triangle$ und der entwickelten Kohlensäuremenge C zustande kommt, hängt nicht wesentlich mit obigem Thema zusammen, und soll in anderem Zusammenhang wieder erörtert werden. Vergl. hierzu Euler, Zeitschrift f. physiol. Chem. 90, 355; 1914.

nochmals 10 Minuten aufgekocht und nach freiwilligem Abkühlen wieder filtriert. Dieser Extrakt wird direkt angewandt.

In 200 ccm Lösung: 2 % PO_4
4 % Glukose $P_H = 5,1$
2 g frische Oberhefe Temp. = 27°.

Zu A: 20 ccm Hefenextrakt
Zu B: 20 ccm Wasser

	Mit Hefenextrakt		Ohne Hefenextrakt	
Minuten	ccm CO_2	Zellenzahl	ccm CO_2	Rel. Zellenzahl
40	50	112	22	108
80	123		52	
100	163	127	69	111

In der Hefenextrakt enthaltenden Lösung hat in der Versuchszeit allerdings eine Zunahme der Zellenzahl stattgefunden, die außerhalb der Versuchsfehlergrenze liegt, und zwar von 112 bis 127, also um rund 14 %. Reduziert man die in Gegenwart und in Abwesenheit von Hefenextrakt entwickelte Anzahl ccm CO_2 auf die gleiche Zellenzahl 100, so wird das Verhältnis der mit und ohne Hefenextrakt entwickelten Kohlensäure 130 : 62.

Man findet also, daß — hypothesenfrei ausgedrückt — die Bestandteile des Hefenextraktes obiger Herstellungsweise die Gärungsgeschwindigkeit im Verhältnis 62 : 130 beschleunigt haben. Dabei ist zunächst zu bemerken, daß der angewandte Extrakt stickstoffhaltige Substanzen enthalten hat. Dies ist in folgendem Versuch in geringerem Grade der Fall.

Auf die Kinetik dieser Gärungsvorgänge kommen wir an anderer Stelle zurück und führen als typischen Fall einen von zahlreichen analogen Versuchen über Beschleunigung der Hefegärung durch gekochten Hefenextrakt aus einer Versuchsreihe von Euler und Heintze an.

Versuch 2

Es handelt sich hier um Vergärung von Glukose durch frische Hefe bei solcher Azidität, bei der eine Zellvermehrung nicht oder kaum mehr stattfindet. Auch hier wird die Gärungsgeschwindigkeit durch gekochten Hefenextrakt stark beschleunigt.

Der Hefenextrakt wurde hergestellt durch 1/4-stündiges Kochen von 100 g Hefe in 1 Liter Wasser.

2 g frische Hefe (27 % Trockengewicht) in 100 ccm Lösung, enthaltend 2,4 g PO_4 und 6 g Glukose.

Hierzu bei A: 50 ccm Hefenextrakt
bei B: 50 ccm Wasser. $P_H = 2,5$

	Versuch A		Versuch B	
Minuten	ccm CO_2	Zellenzahl, rel.	ccm CO_2	Zellenzahl, rel.
60	102	100	58	100
120	201	—	142	—
210	359	—	180	—
240	456	107	241	106

Der sehr geringe Zellenzuwachs wird offenbar durch den Zusatz des Hefenextraktes bei der Azidität 2,5 nicht beeinflußt. Trotzdem beträgt die Gärungsbeschleunigung rund 100 %.

Der hier beobachtete Effekt ist insofern kompliziert, als anorganisches und organisches Phosphat und zahlreiche Bestandteile des gekochten Hefenextraktes an dieser Beschleunigung mitwirken können.

Dies ist beim nächsten Versuch in viel beschränkterem Maß der Fall.

Versuch 3

In 2 Liter Wasser werden 200 g frische Oberhefe aufgeschlemmt und ¹/₄ Stunde gekocht. Die Flüssigkeit wird heiß filtriert, aus der abgekühlten Lösung wird das Eiweiß durch möglichst wenig Essigsäure gefällt, dann wird wieder aufgekocht, abgekühlt und filtriert.

Die Lösung, deren Volumen nun etwa 1,5 Liter betrug, wurde auf 0^0 abgekühlt, und mit 5 Liter Alkohol gefällt. Es wurde ein Niederschlag erhalten, der überwiegend aus anorganischem Phosphat bestand. Das alkoholische Filtrat wurde wie von Euler und Berggren (l. c. S. 213) behandelt. Die alkoholische Lösung wurde auf etwa 75 ccm im Vakuum eingeengt und wieder mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt. Die hierauf eintretende Fällung 2 wurde wieder nach einigen Stunden abfiltriert, das alkoholische Filtrat wurde auf 50 ccm eingeengt.

0,5 ccm dieses Filtrates E wurden zu folgenden vergleichenden Versuchen benutzt.

In 100 ccm Lösung: 1 % PO_4 $P_H \doteq 5,1$
3,8 % Glukose Temp. = 28^0.
1 g frische Oberhefe

zu A: 0,5 ccm Co-Enzymlösung E
zu B: 0,5 ccm Wasser.

Gärungszeit	Mit Lösung E		Ohne Lösung E	
Minuten	ccm CO_2	Zellenzahl, rel.	ccm CO_2	Zellenzahl, rel.
30	41	100	20	100
60	88		49	
120	201	103	119	98
180	308		192	

Bei diesem Versuch liegt der gefundene Zellenzuwachs innerhalb der Versuchsfehlergrenze; trotzdem beschleunigen 0,5 ccm eines wässerig-alkoholischen Hefenextraktes die Gärungsgeschwindigkeit nach zwei Stunden mit etwa 70 %.

Es bestätigt sich also zunächst unser Versuch vom Jahre 1913, daß die Gärung durch lebende Hefe bei Zusatz eines nicht enzymatischen Bestandteils, der als Co-Enzym bezeichnet werden kann, beschleunigt wird, ohne daß ein Zellenzuwachs eintritt.

Im Anschluß an die eben erwähnten Ergebnisse seien hier noch einige von S. Heintze ausgeführten Versuche erwähnt, die sich auf trockene Hefen beziehen, und zwar teils auf Hefen, die bei Zimmertemperatur während 24 Stunden getrocknet worden waren, teils auf Präparate, die nach Buchner mittels Alkohol entwässert worden waren (Alkoholdauerhefen).

Bei 17° getrocknete Hefen

Versuchsanordnung. 1 g Trockenhefe in 50 ccm Wasser gründlich verrührt, dazu 50 ccm Glukoselösung, enthaltend 6 g Glukose und 2,4 g PO_4. Zu den Versuchen A je 50 ccm Hefenextrakt, hergestellt wie in Versuch 1 angegeben, zu Versuchen B je 50 ccm Wasser.

P_H am Anfang der Gärung: 5,1 Temperatur: 28°
am Ende der Gärung: 4,9

	A. Mit Hefenextrakt			B. Ohne Hefenextrakt		
Stunden	ccm CO_2		Rel. Zellenzahl	ccm CO_2		Rel. Zellenzahl
1	15	19	100	13	10	100
3	81	83	—	44	42	—
4	161	163	—	73	69	—
5	293	297	107,5	111	110	101

Die Vermehrung der Zellenzahl um 7,5 % bei den Versuchen A rührt von einer geringen Menge fortpflanzungsfähig gebliebener Zellen des getrockneten Hefenpräparates her und dürfte keinen wesentlichen Einfluß auf das Ergebnis ausüben. Die Beschleunigung tritt bei unseren

Versuchsbedingungen etwa im Verhältnis 1 : 2,5 bis 3 ein. Sie ist also nur wenig höher als bei lebender Hefe.

Parallelversuche mit dem gleichen Präparat angestellt, verlaufen sehr gleichmäßig, dagegen treten bei verschiedenen, in der gleichen Weise hergestellten Präparaten, recht merkbare Verschiedenheiten auf, die von kleinen Differenzen im physiologischen Zustand der Hefe und in der Dauer und Art der Trocknung (Luftfeuchtigkeit, Verteilung usw.) herrühren. So finden wir im nächsten Versuch, der mit einem anderen Präparat angestellt ist, bei der gleichen Azidität in 5 Stunden eine CO_2-Entwicklung von 324 bezw. 135 ccm, während das Mittel in obigem Versuch 295 bezw. 111 ccm betrug.

In einer vorhergehenden Mitteilung von Euler und Heintze[1]) ist die Beziehung zwischen Gärungsgeschwindigkeit und Azidität der gärenden Lösung ermittelt worden. Wir fügen hier zwei Parallelversuche bei, die den Einfluß von Hefenextrakt auf getrocknete Hefe bei zwei Aziditäten, $P_H = 5,0$ und $3,0$ zeigen.

Versuchsanordnung und Temperatur genau wie oben. Sämtliche Zahlen sind Mittelwerte aus zwei Versuchen bezw. vier Beobachtungen.

Gärungsdauer	ccm CO_2			
	$P_H = 5,0$		$P_H = 3,0$	
in Stunden	Mit Hefenextr.	Ohne Hefenextr.	Mit Hefenextr.	Ohne Hefenextr.
1	20	12	15	10
3	104	55	57	26
4	195	90	99	49
5	324	135	157	74

Die Zellenzahl änderte sich bei keinem dieser Versuche um mehr als 4%.

Wie der Vergleich zwischen den beiden Versuchspaaren zeigt, ist die durch Hefenextrakt hervorgerufene Beschleunigung bei der Azidität $P_H = 3,0$ nicht sehr wesentlich verschieden von dem bei $P_H = 5,0$ erzielten Effekt. Ferner ist bemerkenswert, daß diese Beschleunigung nicht viel größer ist als diejenige, welche an frischer Hefe beobachtet wurde. Es ist dies bei der wesentlichen Änderung, welche die Permeabilität der äußeren Plasmaschicht der Hefe bei der Trocknung erfährt, auffallend.

Versuch mit Alkoholdauerhefen

Die gut abgepreßte Oberhefe S B II wurde folgendermaßen behandelt: 15 g Hefe (Trockengewicht 33%) wurden unter 600 ccm 96-

[1]) Euler u. Heintze, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi, Bd. 7, Nr. 21; 1919.

proz. Alkohol durch ein feines Sieb getrieben. Nach 10 Minuten wurde dekantiert, und die Hefe nun zum zweiten Male gesiebt, und zwar diesmal unter 1/2 Liter absoluten Alkohols. Die Hefe blieb dann noch 15 Minuten in Berührung mit dem Alkohol, und wurde durch Dekantieren und darauffolgendes Absaugen und Abpressen vom größten Teil des Alkohols befreit und dann nach Verteilung des fein pulverigen Rückstands im Vakuumexsikkator getrocknet.

Zu jedem Versuch wurde nun 10 g der Alkoholdauerhefe in 50 ccm Wasser gut aufgeschlemmt, dann 50 ccm einer Lösung zugesetzt, die 6 g Glukose und 2,4 g PO_4 enthielt. Zu Lösung A 50 ccm Hefenextrakt, zu Lösung B 50 ccm Wasser. Die Azidität wurde durch Zugabe von Phosphorsäure oder Kalilauge eingestellt.

Es wurde erhalten bei 28° und $P_H = 5,2 - 4,4$:

	ccm CO_2	
Stunden	A. Mit Hefenextrakt	B. Ohne Hefenextrakt
7	24	16
21	209	109

Bei weiteren Versuchen wurde die in obiger Weise dargestellte Alkoholdauerhefe nochmals mit absolutem Alkohol 15 Minuten lang behandelt und dann schnell und gründlich getrocknet.

Zwei Versuche, welche in genau der gleichen Weise ausgeführt wurden, wie der obige, ergaben:

	ccm CO_2	
Stunden	A. Mit Hefenextrakt	B. Ohne Hefenextrakt
2	14	8
7	19	11
22	102	61

Durch die zweite Alkoholbehandlung ist die Gärungsgeschwindigkeit der Hefe offenbar bedeutend zurückgegangen.

Während man hätte erwarten können, daß nun der Einfluß des zugesetzten Hefenextraktes stärker wird, zeigt sich umgekehrt eher eine geringere Wirkung der im Hefenextrakt wirksamen aktivierenden Substanzen[1]). Wir werden in der Fortsetzung dieser Untersuchung fest-

[1]) Als vorläufiges, noch nicht weiter bestätigtes Ergebnis mag hier noch folgendes Versuchsresultat von S. Heintze angeführt werden:

Wir haben den Einfluß des Hefenextraktes unter obigen Versuchsbedingungen auch bei den Aziditäten $P_H = 5,0$ und 7,6 verglichen, und haben hierbei nicht die entwickelte Kohlensäure, sondern die Abnahme des Zuckers, und zwar nach der Reduktionsmethode von Bertrand gemessen. Dabei ergaben sich für eine Versuchszeit von 7 Stunden folgende Mengen verbrauchter Glukose in g:

zustellen suchen, ob und in welchem Grade hier eine Zerstörung oder Schwächung der eigentlichen Enzymkomponente des Gärungssystems eintritt[1]).

2. Aktivierung lebender Hefe durch Salze organischer Säuren

Euler und Cassel[2]) fanden 1913, daß die Gärung lebender Hefe nicht nur durch Hefenextrakt (Euler u. Berggren, vergl. S. 205) und durch die Alkalisalze des Fruktosediphosphorsäureesters (Euler u. Bäckström[3])) aktiviert wird, sondern auch durch Alkalisalze zahlreicher organischer Säuren, besonders von Oxysäuren und Ameisensäure.

Während Harden und Young den Befund von Euler und Bäckström bezüglich des Fruktosediphosphorsäureesters bestätigen konnten, haben die genannten Verfasser die Vermutung geäußert, daß die Vergrößerung der Gärungsgeschwindigkeit lebender Hefe durch Salze wie Natriumformiat durch den Zuwachs der Hefe bedingt sei, und also keine eigentliche Gärungsaktivierung darstelle[4]).

Wir haben diesem von so autoritativer Seite gemachten Einwand sofort unsere Aufmerksamkeit gewidmet, und es wurden zunächst von Euler und Hammersten[5]) Versuche darüber angestellt, ob wirklich bei den von Euler und Cassel angewandten Vergärungszeiten durch die benutzten Salzmengen eine stärkere Zunahme des Hefengewichtes eintritt als in Parallelversuchen ohne Salzzusatz.

In keinem Fall ist durch Zusatz der Formiate innerhalb der 6 Gärungsstunden eine über die Versuchsfehler der Zellenzählung hinausgehende Zellenvermehrung eingetreten.

Wir fassen die Ergebnisse unserer Versuche mit Formiaten zusammen:

$P_H = 5,0$		$P_H = 7,6$	
Mit Hefenextr.	Ohne Hefenextr.	Mit Hefenextr.	Ohne Hefenextr.
1,90	1,40	1,82	1,36

[1]) Falls es sich zeigt, daß die Enzymkomponente nicht wesentlich durch die Alkoholbehandlung bezw. die Wasserextraktion verändert wird, würde man in obigen Resultaten weitere Anhaltspunkte für die bereits von Euler und Berggren geäußerte Vermutung sehen können, daß, außer dem anorganischen Phosphat und dem Hardenschen Co-Enzym noch wenigstens ein weiterer Aktivator an der Gärung wesentlich beteiligt ist.

[2]) Euler u. Cassel, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 86, 122; 1913.

[3]) Euler u. Bäckström, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 77, 394; 1912.

[4]) Harden u. Young, Biochem. Journ. 7, 630; 1913.

[5]) Euler u. Hammarsten, Biochem. Zeitschr. 76, 314; 1916.

	NH_4-Formiat	K-Formiat	Na-Formiat
Prozentische Erhöhung d. in 6 Stunden entw. CO_2 bei 0,04 g Formiat . .	118	54	45

Im Anschluß an die im ersten Abschnitt mitgeteilten Versuche sind wir nun nochmals auf die Frage zurückgekommen, ob die Gärungsaktivierung durch die Alkalisalze organischer Säuren auf eine Beeinflussung des Hefenwachstums zurückzuführen sei, und zwar haben wir diesmal genaue Zählungen der Zellenzahl in den gärenden Lösungen vorgenommen.

Methodisches: Die Feststellung der Zellenzahl geschah wie bei früheren ähnlichen Messungen in der Thoma-Zeisschen Rechenkammer; die Lösungen, wie sie zur Gärung Verwendung fanden, wurden im Verhältnis 1 : 10 verdünnt und die Zellenzahl wurde in 0,009 mm^3 bestimmt.

Die Messung der Gärungsgeschwindigkeit geschah volumetrisch in genauem Anschluß an die von Euler und Cassel angegebenen Versuchsbedingungen. In den Tabellen sind die ccm entwickelter Kohlensäure unreduziert angegeben.

Versuch 1

Stunden	Ohne Zusatz $P_H = 5,3—3,5$		Mit 0,04 g NH_4-Formiat $P_H = 4,6—3,2$	
	a	b	a	b
1	23	21	27	27
2	44	42	74	73
3	62	59	118	117
4	79	—	163	162
5	98	92	207	206
6	116	111	250	248
Zellenzahl 0 St.	48 Zellen		50 Zellen	
Zellenzahl 6 St.	49 Zellen		52 Zellen	

Versuch 2

In den folgenden Tabellen geben wir nicht mehr die Parallelversuche einzeln an, sondern fassen die Messungen zu Mittelwerten zusammen. Die Zellenzahlen sind per 0,012 mm^3 angegeben.

Wie früher fanden wir auch diesmal bei Anwendung von 0,04 g Kaliumformiat eine Beschleunigung von 50 %. Ein Zellenzuwachs trat hierbei nicht ein.

110 ccm H_2O, 2 g Rohrzucker, 0,5 g Hefe

Stunden	Ohne Zusatz $P_H = 5,2-4,4$	Mit 0,04 g K-Formiat $P_H = 5,0-4,2$
1	11	21
2	22,5	35,5
4	36,5	61
6	59	91
Zellenzahl 0 St.	85	87
Zellenzahl 6 St.	88	88

Versuch 3

Zu diesem Versuch ist Natriumformiat statt Kaliumformiat verwendet worden. Die Zellenzahlen sind wieder per 0,012 mm³ angegeben.

Stunden	Ohne Zusatz $P_H = 5,2-3,3$	Mit 0,04 g Na-Formiat $P_H = 6,2-4,3$
1	15	21,5
2	30	46
4	56,5	81
6	82	119
Zellenzahl 0 St.	94	93
Zellenzahl 6 St.	94	90

Wie schon früher gefunden worden war, ist die prozentische Aktivierung durch Natriumsalze etwas geringer als durch die entsprechenden Kaliumsalze. Es bestätigte sich auch das frühere Resultat, daß diese Salzwirkung nicht wesentlich durch Anwendung höherer Salzkonzentrationen geändert wird.

Zusammenfassung

Es wurde durch neue Messungen nachgewiesen, daß die alkoholische Gärung durch frische Oberhefe

1. durch Aktivatoren, welche im wässerigen Hefenextrakt enthalten sind (vermutlich Co-Enzym nach Harden und Young)
2. durch Ammonium- und Alkalisalze der Ameisensäure

stark beschleunigt wird, auch wenn keine oder nur eine ganz unwesentliche Vermehrung der Zellenzahl in der gärenden Lösung eintritt.

Die Aktivierung von Trockenhefe durch Co-Enzym ist von der Azidität der Lösung im Gebiet $P_H = 3$ bis 7 wenig abhängig.

Versuche über die Rückbildung der Saccharase in vorbehandelter Hefe

von

Hans v. Euler und Olof Svanberg.

Mit einer Figur im Text.

Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.

Eingegangen 27. Mai 1919.

Wir haben kürzlich festgestellt, daß bei einer Hefe, welche während längerer Perioden unter gleichartigen Bedingungen kultiviert wurde, der Quotient

$$\frac{\text{Inversionskonst.} \times \text{g Zucker}}{\text{Zellenzahl}}$$

nur innerhalb der recht engen Grenzen $(10 \pm 2) \cdot 10^{-12}$ schwankte[1]).

Nachdem wir ferner die Bildung der Saccharase in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur und der Azidität der Nährlösung untersucht hatten, ergab sich die Frage, wie konstant die durch die Vorbehandlung der Zellen hervorgerufene Enzymwirkung, bezw. der veränderte Enzymgehalt, ist. Die Aufgabe bestand also, allgemein ausgedrückt, darin, zu untersuchen, unter welchen Bedingungen und in welcher Zeit eine Rückbildung des durch eine Vorbehandlung erworbenen Enzymgehaltes erfolgt.

Eine solche Untersuchung ist unseres Wissens bis jetzt nur für einen Fall ausgeführt worden, nämlich für die Rückbildung von Galaktase, über die der eine von uns vor etwa 1 Jahr nach Versuchen von Emberg eine vorläufige Mitteilung gemacht hat[2]).

Wie schon früher einmal betont wurde[3]), besteht ein wesentlicher Unterschied einerseits zwischen derjenigen Enzymbildung, welche bei der zunehmenden Fähigkeit der Hefe zur Galaktosevergärüng zum Ausdruck kommt, und andererseits der Steigerung der Inversionsfähigkeit der Zellen, welche durch Vorbehandlung der Hefe mit Zuckerlösungen eintritt.

---

[1]) Euler und Svanberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **105**, 87, **106**, 217—218, 1919.

[2]) Euler, Zeitschr. f. Elektochem. **24**, 173, 1918.

[3]) Euler und Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 274, 1912; siehe auch Euler und Johansson, ebenda **84**, 97, 1913.

Im ersteren Fall handelt es sich zweifellos um die Anpassung an ein unter normalen Verhältnissen für die Hefe ungewohntes Nährsubstrat. Wird nach erfolgter Anpassung die Galaktose wieder durch einen anderen gärfähigen Zucker ersetzt, so tritt ein Rückgang der erworbenen Eigenschaft ein, welchen wir kurz als Rückbildung oder Abgewöhnung bezeichnen können.

Bei der Saccharasebildung macht sich ein ähnlicher Einfluß des Substrates nicht geltend. Vielmehr handelt es sich bei der Bildung dieses Enzyms um die Einstellung eines von äußeren Bedingungen variierenden Maximums des Enzymgehaltes bezw. der Enzymwirkung.

Es fragt sich nun, was geschieht, wenn die für eine erworbene Enzymwirkung geltenden optimalen Bedingungen nicht mehr vorhanden sind, wenn die Zellen also unter anderen Bedingungen kultiviert werden, als diejenigen, bei welchen eine Erhöhung der Enzymwirkung erreicht wurde.

Prinzipiell ist die Frage nach der Konstanz der durch Vorbehandlung erworbenen enzymatischen Eigenschaften in mehrfacher Hinsicht von wesentlicher Bedeutung. Erst durch die quantitative Bestimmung des zeitlichen Verlaufes der Bildung und Rückbildung der Enzyme bezw. der biochemisch wirksamen Zellkatalysatoren, welche sich noch nicht in Enzymgruppen haben auflösen lassen, kann die in der biologischen Literatur vielbesprochene Unterscheidung zwischen Mutation und Variation bei Mikroorganismen auf eine exakte Grundlage gestellt werden.

Die hier mitgeteilten Versuche können nur als erste Orientierung auf diesem Gebiete angesehen werden. Sie beziehen sich auf die Inversionsfähigkeit unserer hier oft untersuchten Brauerei-Unterhefe H. In einer vorhergehenden Arbeit (l. c.) haben wir diese Hefe hinsichtlich Gärfähigkeit, Inversionsfähigkeit und Zellenzuwachs charakterisiert. Indem wir auf diese Arbeit verweisen, können wir uns hier darauf beschränken den früher festgestellten Ausdruck für die Inversionsfähigkeit anzugeben:

$$\text{Inversionsfähigkeit (Inv.)} = \frac{\text{Inversionskonst.} \times \text{g Zucker}}{\text{Zellenzahl}}$$

Versuchsanordnung.

Bezüglich der Ausführung der im Folgenden angegebenen Versuche können wir auf unsere früheren Mitteilungen verweisen, insbesondere auf unsere kürzlich veröffentlichte Arbeit über Saccharasewirkung und Saccharasebildung[1]).

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 201, 1919.

Wir geben im folgenden die Mittelwerte der erhaltenen Inversionskonstanten k an, unter Hinweis auf die als Beilage mitgeteilten Versuche, ferner die Zellenzahl und die aus diesen Daten und der angewandten Zuckermenge (4,8 g) berechneten Inversionsfähigkeiten (Inv.).

Ausgangszustand und Vorbehandlung.

Unvorbehandelte Hefe.

$$k = 75 \cdot 10^{-4} \text{ (Beil. 1)}$$

$$\text{Zellenzahl} = 0{,}30 \cdot 10^{10}$$

$$\text{Inv.} = \frac{75 \cdot 10^{-4} \times 4{,}8}{0{,}30 \cdot 10^{10}} = 12{,}0 \cdot 10^{-12}$$

Vorbehandlung.

In zwei 1-Liter-Standkolben wurde folgende Vorbehandlungsflüssigkeit vorbereitet:

2,5 g Ammoniumphosphat
10 g Rohrzucker
2 g KH_2PO_4
Wasser zu 500 ccm

In jeden der beiden Kolben wurde 5 g frische abgepreßte Hefe H aufgeschlemmt. Die Vorbehandlung geschah bei $+25^0$, oder bei einer etwas niedrigeren Temperatur als der Optimaltemperatur der Saccharasebildung entspricht, und zwar zur Vermeidung einer zu frühzeitigen Autolyse und der damit verbundenen Schwierigkeiten, die sich beim Abdekantieren der Flüssigkeit von der Hefe ergeben. Jeden Tag wurde die Vorbehandlungsflüssigkeit gewechselt und dabei die Hefe quantitativ auf ihren Saccharasegehalt geprüft.

Dauer d. Vorbhdlg.	Kolben I	Kolben II
1. Tag	$k = 159 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 2)	$k = 163 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 3)
	Zellenzahl $= 0{,}29 \cdot 10^{10}$	Zellenzahl $= 0{,}27 \cdot 10^{10}$
	Inv. $= 26{,}5 \cdot 10^{-12}$	Inv. $= 28 \cdot 10^{-12}$
2. Tage	$k = 198 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 4)	
	Zellenzahl $= 0{,}28 \cdot 10^{10}$	
	Inv. $= 34 \cdot 10^{-12}$	
3. Tage	$k = 231 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 5)	$k = 241 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 6)
	Zellenzahl $= 0{,}29 \cdot 10^{10}$	Zellenzahl $= 0{,}31 \cdot 10^{10}$
	Inv. $= 38 \cdot 10^{-12}$	Inv. $= 37{,}5 \cdot 10^{-12}$

Rückbildungsversuche

Mit der so vorbehandelten Hefe wurden bei niedriger Temperatur drei Versuchsreihen angestellt:

Versuchsreihe A: Hefe in Leitungswasser bei 7°.

Etwa 2,5 g der vorbehandelten Hefe I wurden bei $+7 \pm 1^0$ in 250 ccm Leitungswasser aufgeschlemmt und bei dieser Temperatur gehalten, also lediglich einer Wässerung unterworfen. Jeden Tag wurde das Wasser gewechselt und die Hefe wie oben geprüft. Die Temperatur 7° entspricht etwa der für diese Hefe natürlichen Gärkellertemperatur.

Nach 1 Tag $k = 194 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 7)
Zellenzahl $= 0{,}30 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 31 \cdot 10^{-12}$

Nach 2 Tagen $k = 203 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 8)
Zellenzahl $= 0{,}29 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 33{,}5 \cdot 10^{-12}$

Nach 3 Tagen $k = 181 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 9)
Zellenzahl $= 0{,}28 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 31 \cdot 10^{-12}$

Nach 4 Tagen $k = 194 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 10)
Zellenzahl $= 0{,}25 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 37 \cdot 10^{-12}$

Nach 5 Tagen $k = 228 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 11)
Zellenzahl $= 0{,}24 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 45{,}5 \cdot 10^{-12}$ [1])

Versuchsreihe B: Hefe in Nährlösung bei 7°.

Etwa 2,5 g der vorbehandelten Hefe wurden bei $+7 \pm 1^0$ in 250 ccm der gleichen Flüssigkeit weiter behandelt, in der die Vorbehandlung bei $+25^0$ erfolgt war. Jeden Tag wurde die Flüssigkeit erneuert und die Hefe auf Aktivität geprüft. Die Resultate sind die Folgenden:

Nach 1 Tag $k = 225 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 12)
Zellenzahl $= 0{,}30 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 36 \cdot 10^{-12}$

Nach 2 Tagen $k = 170 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 13)
Zellenzahl $= 0{,}26 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 31{,}5 \cdot 10^{-12}$

Nach 3 Tagen $k = 114 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 14)
Zellenzahl $= 0{,}19 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 29{,}0 \cdot 10^{-12}$

---

[1]) Versuchsfehler: Etwa $2 \cdot 10^{-12}$

Nach 4 Tagen $k = 132 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 15)
Zellenzahl $= 0{,}24 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 26{,}5 \cdot 10^{-12}$

Nach 5 Tagen $k = 160 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 16)
Zellenzahl $= 0{,}22 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 35 \cdot 10^{-12}$

Versuchsreihe C: Hefe in Nährlösung bei 17⁰.

Genau wie Versuchsreihe B, aber bei 17⁰.

Nach 1 Tag $k = 207 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 17)
Zellenzahl $= 0{,}30 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 33 \cdot 10^{-12}$

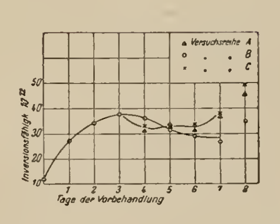
Nach 2 Tagen $k = 222 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 18)
Zellenzahl $= 0{,}32 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 33{,}5 \cdot 10^{-12}$

Nach 3 Tagen $k = 193 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 19)
Zellenzahl $= 0{,}275 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 33{,}5 \cdot 10^{-12}$

Nach 4 Tagen $k = 240 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 20)
Zellenzahl $= 0{,}30 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 38 \cdot 10^{-12}$

Nach 5 Tagen $k = 319 \cdot 10^{-4}$ (Beil. 21)
Zellenzahl $= 0{,}31 \cdot 10^{10}$
Inv. $= 49{,}5 \cdot 10^{-12}$

Die folgende Figur gibt eine Übersicht über die erhaltenen Zahlen.



Aus den beiden Kurven der Figur ersehen wir zunächst, daß ein Rückgang des bei 25⁰ erworbenen Saccharasegehaltes zum Ausgangswert bei unserer Unterhefe nicht stattfindet.

Für eine gegebene, sich nicht vermehrende Hefemenge ist der einmal erworbene Saccharasegehalt ziemlich konstant (soweit die Zellen selbst erhalten bleiben). (Versuchsreihe A.) Dieses Ergebnis steht im Einklang damit, daß die Saccharase der Hefe bei autolytischen Vorgängen in den Zellen nicht zerstört wird.

Behandelt man die bei 25⁰ vorbehandelte Hefe bei 7⁰ mit Zucker und Stickstoffnahrung weiter, so tritt zunächst ein Rückgang der Aktivität ein. Man kann dies damit in Zusammenhang

Beilage	Minuten	Drehung in 5 cm Rohr Grad	Inversionskonstante $k \cdot 10^4$	Bemerkung
1	0	1,33		Unvorbehandelte Hefe
	20	0,83	71	
	30	0,61	74	
	40	0,40	79	
	40	0,28	76	
2	0	1,33		Vorbehandlg. bei 25°
	10	0,80	152	
	20	0,38	163	
	30	0,12	161	
3	0	1,33		
	10	0,79	155	
	20	0,37	165	
	30	0,09	169	
4	0	1,33		
	12	0,59	192	
	15	0,44	198	
	20	0,23	205	
5	0	1,33		
	8	1,71	229	
	12	0,49	228	
	15	0,33	235	
6	0	1,33		
	8	0,69	238	
	12	0,46	239	
	15	0,30	246	
7	0	1,33		A Auswaschen bei 7°
	8	0,795	192	
	12	0,58	195	
	15	0,45	194	

Beilage	Minuten	Drehung in 5 cm Rohr Grad	Inversionskonstante $k \cdot 10^4$	Bemerkung
8	0	1,33		
	8	0,77	202	
	12	0,56	202	
	15	0,42	204	
9	0	1,33		
	8	0,84	173	
	12	0,62	182	
	15	0,47	188	
10	0	1,33		
	8	0,79	194	
	12	0,59	192	
	15	0,44	197	
11	0	1,33		
	8	0,72	225	
	12	0,48	231	
	15	0,35	228	
12	0	1,33		Weiterbehandlg. bei 7° (B)
	8	0,70	224	
	12	0,49	226	
	15	0,36	224	
13	8	0,84	172	
	12	0,66	169	
	15	0,54	168	
14	8	0,99	113	
	12	0,85	112	
	15	0,73	117	
15	8	0,97	125	
	12	0,78	132	
	15	0,64	140	

Beilage	Minuten	Drehung in 5 cm Rohr Grad	Inversionskonstante k · 10^4	Bemerkung	Beilage	Minuten	Drehung in 5 cm Rohr Grad	Inversionskonstante k · 10^4
16	8	0,86	164		19	8	0,79	194
	12	0,59	159			12	0,60	188
	15	0,67	159			15	0,44	197
17	0	1,33		Weiterbehandlg. bei 17-18^0 (C)	20	8	0,70	234
	8	0,77	203			12	0,45	239
	12	0,55	205			15	0,30	246
	15	0,39	214					
					21	8	0,57	298
18	8	0,73	220			12	0,26	326
	12	0,49	228			15	0,10	332
	15	0,38	217					

setzen, daß hier neue Zellen von geringerem Saccharasegehalt aussprossen, ein Vorgang, welcher natürlich die Saccharasewirkung der gesamten Hefemenge beeinflußt. (Versuchsreihe B.)

Was dann die Versuchsreihe C betrifft, so zeigt sich, daß ein Weiterbehandeln der Hefe bei 17^0 kein Abklingen der Saccharasewirkung mit sich führt, sondern bei längerer Dauer eine gesteigerte Enzymbildung hervorruft[1]). Dieser Befund wird schon durch die Tatsache verständlich, daß bei dieser Temperatur ein derartiges „Hochzüchten" von stark invertierender Hefe leicht gelingt.

Bei den hier mitgeteilten Versuchen ist im wesentlichen studiert worden, wie die Enzymwirkung einer gewissen Menge vorbehandelter Zellen sich bei weiterer Behandlung der gleichen Generation verhält. Eine zweite Frage ist die, wie sich die aus einigen vorbehandelten Zellen entstehenden nächsten Generationen in Bezug auf einen „hochgezüchteten" Enzymgehalt verhalten, also in welcher Zeit, oder noch besser nach welcher Anzahl Generationen der durch die Vorbehandlung

[1]) Übrigens soll noch hervorgehoben werden, daß bei dieser Versuchsreihe Schwankungen in den Resultaten vorkommen, die — die methodischen Versuchsfehler weit übersteigend — nicht leicht zu erklären sind. Zum Teil handelt es sich vielleicht um den Übertritt der Saccharase aus den Zellen in die Lösung.

erreichte Zuwachs der Enzymwirkung auf ein bestimmtes Maß, etwa auf die Hälfte wieder gesunken ist. Solche Versuche sind angestellt worden, haben aber bis jetzt noch zu keinem endgültigen Resultat geführt; wir möchten ihre Fortsetzung für einige Zeit dem hiesigen Laboratorium vorbehalten.

Die schädliche Wirkung der Strohdüngung und deren Verhütung

von

Otto Rahn

Mitteilung aus dem Institut für Agrikulturchemie und Bakteriologie der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin

Herr Professor Lemmermann hat mich veranlaßt, in Verfolg seiner früheren Arbeiten den Ursachen der bekannten schädlichen Wirkung einer Strohdüngung auf Pflanzen weiter nachzuforschen und festzustellen, wann und unter welchen Bedingungen dieselbe sich in eine nützliche Wirkung umwandelt.

Es darf als bekannt vorausgesetzt werden, daß die Strohdüngung vorwiegend stickstoffentziehend wirkt. Dies ist vielfach bewiesen durch die Aufhebung der Schädigung bei Stickstoffdüngung und durch die Unempfindlichkeit der Leguminosen, die vom Bodenstickstoff unabhängig sind, gegen Strohdüngung. Welchen Anteil die beiden Möglichkeiten der Stickstoffentziehung, die Denitrifikation und die Festlegung, hieran haben, soll hier nicht erörtert werden. So wichtig diese Frage auch für den Landwirt ist, so wird es auch bei umfangreichstem, auf viele Parallelversuche gestütztem Analysenmaterial nicht möglich sein, diese Frage eindeutig und ziffermäßig zu beantworten. Beide Vorgänge können eintreten, da die hierzu nötigen Mikroorganismen im Boden reichlich vorhanden sind. Ein starker Regen kann in einem Jahre eine fast voll-Denitrifikation verursachen, während im folgenden Jahre bei trockener Witterung gar keine Denitrifikation eintritt. Der Unterschied zwischen Stroh und mineralischen Düngern besteht darin, daß das Stroh sich weiter umwandelt, daß diese Umwandlung sich in wenigen Tagen vollziehen kann und ganz von den klimatischen Bedingungen beherrscht

wird. Ausschlaggebend für das Verhältnis zwischen Denitrifikation und Stickstofffestlegung ist also das Bodenklima in den ersten Wochen nach der Strohgabe. Eine Norm kann nicht aufgestellt werden.

Es handelt sich hier also im wesentlichen darum, die Ursache und den Zeitpunkt des Aufhörens der schädlichen Strohwirkung festzustellen. Auch auf diese Frage wird man keine ziffernmäßig definierte Antwort erwarten können. Die Zersetzungsmöglichkeiten sind derartig verschieden, daß es ganz wertlos wäre, auf Grund mehrerer Versuche festzustellen, daß der Boden nach Zersetzung von 87% der Pektinstoffe oder nach Bildung von 0,24% Buttersäure wieder normal wird.

I. Die Schädigung der Pflanzen durch Stickstoffentziehung.

Um die Ernährungsverhältnisse der Pflanzen zu verstehen, müssen wir uns erst ein Bild von den Ernährungsverhältnissen der Mikroorganismen im Boden machen. Die Allgegenwärtigkeit der Mikroorganismen auf jedem kleinsten Bodenkrümel setzt sie in großen Vorteil gegenüber den Pflanzen, deren Wurzeln bei weitem nicht so vollständig den Boden durchdringen können. Ich glaube, daß die folgende Darstellung, die in keinem Punkte der vorherrschenden Meinung widerspricht, dazu beitragen wird, einige Unklarheiten zu beseitigen.

Im normalen Boden vermehren sich die Bakterien nicht, oder die Zunahme ist nicht größer als die Abnahme. Dies rührt nicht vom Mangel an assimilierbaren Stickstoffverbindungen her, denn Ammoniak oder Nitrat läßt sich in solchen Böden fast immer nachweisen. Es herrscht vielmehr ein Mangel an leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen, die als Energiequelle zum Wachstum dienen könnten. Der Boden befindet sich also für die Mikroorganismen im Kohlenstoffminimum. Fügt man Stroh hinzu, so ist damit den Kleinlebewesen eine Kohlenstoff- und Energiequelle gegeben, und es setzt nun sofort lebhaftestes Wachstum ein. Die Vermehrung wird solange andauern, bis einer der Nährstoffe verbraucht ist. Bei den für Laboratoriumsversuche üblichen Strohmengen von 0,5—1% der Erdmenge werden gewöhnlich die assimilierbaren Stickstoffverbindungen zuerst versiegen, und es entsteht ein Stickstoffminimum. Zersetzliche organische Substanz ist zwar noch vorhanden, kann aber nur langsam zersetzt werden, denn den Mikroorganismen fehlt Stickstoff nicht nur zur Vermehrung, sondern sogar zur Enzymbidung und zur Reparatur der Zellen. Dieser Zustand wird naturgemäß bei stickstoffarmen Böden schneller eintreten und länger andauern als bei stickstoffreichen. Er kann bei stickstoffarmen Böden zwei Jahre,

bei Komposthaufen noch länger anhalten. Man hat bisher allein das Stickstoffminimum für die Erntepflanzen berücksichtigt und der Versorgung der Bodenmikroorganismen wenig Beachtung geschenkt. Doch ist gerade diese zum Verständnis der Ernährungsverhältnisse recht wichtig.

Gibt man einem solchen mit Stroh behandelten Boden eine Stickstoffdüngung, so wird die Verarbeitung der leicht zersetzlichen organischen Substanz schnell wieder einsetzen, und kann bei genügender Stickstoffgabe in kurzer Zeit so vollständig sein, daß das Stickstoffminimum überwunden ist. Man kann diesen Vorgang als eine Selbstreinigung des Bodens bezeichnen, wie man es bei Abwässern tut. Sobald das Kohlenstoffminimum erreicht ist, kann wieder normales Pflanzenwachstum eintreten, denn das langsam und stetig sich entwickelnde Ammoniak und und Nitrat steht jetzt wieder den Pflanzen zur Verfügung.

Bei diesen Vorgängen kann natürlich unter besonderen Umständen auch ein Teil des Nitrats denitrifiziert werden, besonders wenn man gleichzeitig mit Stroh und Salpeter düngt. Das ändert an der Darstellung der bakteriologischen Verhältnisse gar nichts, sondern verschärft nur das Stickstoffminimum.

Die häufig beobachtete günstige Wirkung einer Stickstoffdüngung bei Schädigung durch Stroh entsteht also nicht nur durch die Stickstoffversorgung der Pflanzen, sondern auch dadurch, daß der mikrobiologische Vorgang der Strohzersetzung zu Ende geführt wird und daß an Stelle des Stickstoffminimums wieder das normale Kohlenstoffminimum tritt. — Was hier für den Stickstoff ausgeführt ist, kann natürlich auch für andere Pflanzennährstoffe eintreten.

Die hier gegebene Erklärung der Erscheinungen durch ein Stickstoffminimum soll durch einige Versuche gestützt werden, die zeigen, daß die Bakterien im Boden bei Strohgabe sehr stickstoffhungrig sind und daß man die Zersetzung des Strohs durch Stickstoffdüngung sehr fördern kann.

Der erste Versuch zeigt, daß die im Stroh vorhandenen Stickstoffsubstanzen zur Deckung des Stickstoffbedarfs der Stroh zersetzenden Organismen nicht genügen. — In 30 Bechergläsern von 500 ccm Inhalt wurden je 5,000 g gemahlenes, lufttrockenes Roggenstroh mit 25 ccm einer Bodenaufschwemmung angefeuchtet, so daß Bakterienwachstum bei reichlichem Luftzutritt möglich war. Die Gläser wurden in fünf Reihen eingeteilt, Reihe A ohne weiteren Zusatz, Reihe B mit 0,048 g $NaNO_3$, C mit 0,096 g $NaNO_3$, D mit 0,029 g NH_4 Cl und E mit 0,058 g NH_4 Cl. Diese Mengen ergeben einen Stickstoffgehalt der Nährlösung von 0,03

und 0,06 %. Dies entspricht etwa dem Stickstoffgehalt der Bodenlösung bei gedüngten Versuchstöpfen. — Die Gläser wurden zugedeckt bei 24° gehalten. Zweimal wöchentlich wurde der Wasserverlust ersetzt und das Stroh umgerührt. Von jeder Reihe wurde wöchentlich ein Gefäß zur Trockensubstanzbestimmung verwendet.

Tabelle I

Trockensubstanzverluste von verrottendem Stroh

	I. Trockengewichte in g				
	A ohne Stickstoff	B 0,048 g $NaNO_3$	C 0,096 g $NaNO_3$	D 0,029 g NH_4Cl	E 0,058 g NH_4Cl
Am Anfang . .	4,632	4,678	4,718	4,640	4,648
Nach 1 Woche .	4,404	4,320	4,269	4,313	4,262
„ 2 Wochen .	4,340	4,230	4,034	4,116	4,115
„ 3 „ . .	4,289	4,087	3,969	3,985	4,015
„ 4 „ . .	4,217	4,022	3,762	3,874	3,862
„ 5 „ . .	4,161	3,960	3,664	3,709	3,873

	II. Gesamtverlust in mg					III. Prozentischer Verlust				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
Nach 1 Woche .	228	358	449	327	386	4,9	7,7	9,6	7,0	8,3
„ 2 Wochen	292	448	684	524	533	6,3	9,6	14,7	11,2	11,3
„ 3 „ .	343	601	749	655	633	7,4	13,0	16,0	14,0	13,5
„ 4 „ .	415	656	956	766	786	9,0	14,0	20,5	16,4	16,9
„ 5 „ .	471	718	1054	931	775	10,1	15,4	22,6	20,0	16,6

Die Beschleunigung der Strohzersetzung durch die Stickstoffgabe ist unverkennbar; schon nach einer Woche ist sie deutlich merkbar und vergrößert sich noch im weiteren Verlauf der Zersetzung. Der im Stroh selbst vorhandene Stickstoff im Betrage von 17 mg erlaubt also nur eine recht langsame Strohzersetzung, und ein Zusatz von 7 mg Nitratstickstoff beschleunigt die Zersetzung bereits sehr; bei 15 mg ist die Geschwindigkeit mehr als verdoppelt.

Die verschiedenen Stickstoffgaben ändern nicht nur die Geschwindigkeit der Zersetzung, sondern auch deren Typus. Das Nitratstroh wurde dunkelbraungelb, am dunkelsten bei der größten Nitratgabe, während das Ammoniakstroh zuerst ausbleichte und hellgraugelb wurde. Dann setzte

bei D eine Schwarzgraufärbung ein, während E heller blieb und ein Penicillium in großen Mengen zeigte, das bei D ganz fehlte. Im allgemeinen neigte das Ammoniakstroh mehr zur Schimmelbildung als das Nitratstroh. Zu einem Studium der hierbei beteiligten Organismen reichte leider die Zeit nicht.

Es mußte nun weiter nachgewiesen werden, daß die Beschleunigung der Strohzersetzung auch in Erde stattfindet. Als Maßstab wurde die gebildete Kohlensäuremenge gewählt. Je 100 g lufttrockener Dahlemer Erde wurden mit 1 g gemahlenem luftrockenem Roggenstroh und 10 ccm Wasser gut durchgemischt. Die Proben A erhielten keinen Zusatz, die Proben B je 0,40 g $NaNO_3$ und die Proben C erhielten dieselbe Nitratmenge, aber kein Stroh. Die Erdproben standen in großen Gas-Waschflaschen, durch welche täglich 3—4 Liter Luft hindurchgeleitet wurden, nachdem es sich herausgestellt hatte, das eine stärkere Durchlüftung keine höheren Werte gab.

Tabelle II.
Kohlensäurebildung aus Stroh in Erde.

	Gesamtmenge in mg						Tägliche Menge in mg					
	A Stroh		B Stroh + Nitrat		C Nitrat		A Stroh		B Stroh + Nitrat		C Nitrat	
Nach 1 Tag . .	28	28	27	18	5	8	28	28	27	18	5	8
„ 2 Tagen .	54	54	53	40	13	12	26	26	26	22	8	4
„ 4 „ . .	114	109	120	110	13	16	30	28	34	35	0	2
„ 5 „ . .	136	135	164	154	20	18	22	24	44	44	7	2
„ 7 „ . .	169	147[1]	244	240	23	21	17	6[1]	40	43	2	2
„ 8 „ . .	183	147[1]	281	273	25	24	14	6[1]	37	33	2	3
„ 9 „ . .	188	156	305	303	18	26	5	9	24	30	0	2
„ 10 „ . .	201	167	332	325	22	26	13	11	27	22	0	0
„ 11 „ . .	209	170	354	346	26	27	8	3	22	21	1	1
„ 12 „ . .	218	178	378	374	24	28	9	8	24	28	0	1
„ 13 „ . .	233	193	399	395	24	28	15	15	21	21	0	0
„ 15 „ . .	250	210	446	453	27	29	9	9	24	29	1	1

Diese Zahlen stützen die Annahme eines Stickstoffminimums für die Mikroorganismen bei Strohdüngung vorzüglich. In den ersten vier Tagen ist noch genügend Bodenstickstoff vorhanden, so daß die Zersetzung in allen vier Stroherden gleich verläuft. Die Erde enthielt in 100 g 1,8 mg

[1]) Bei dem vorgeschalteten Chlorkalziumröhrchen wurde eine Undichtigkeit entdeckt. Das Röhrchen wurde ausgewechselt.

Ammoniak- und Nitratstickstoff. Am fünften Tage zeigen die stickstoffarmen Proben aber bereits einen scharfen Abfall in der Atmungsintensität, ein Beweis dafür, daß die Vermehrung aufgehört hat. Bei den mit Nitrat behandelten Erden dagegen geht die Vermehrung noch bis zum achten Tage weiter, dann nimmt die tägliche Kohlensäuremenge auch ab, bleibt aber mehr als doppelt so hoch wie die der stickstoffarmen Erden.

Nach 15 Tagen sind in den Nitraterden bereits 450 mg Kohlensäure gebildet. Man kann daraus auf eine Oxydation von mindestens 150 mg Stroh oder 15% der zugesetzten Menge schließen. Die täglich zersetzte Menge beträgt nach 14 Tagen immer noch mehr als $^1/_2$% der gesamten Strohmasse. Es darf also angenommen werden, daß das Minimum der leicht zersetzlichen Kohlenstoffverbindungen bald erreicht sein wird. Bei der stickstoffarmen Erde mit ihrer viel geringeren Kohlensäureproduktion wird dieses Stadium erst sehr viel später erreicht werden können.

Die sprunghaften Änderungen der Atmungsintensität sind der stark wechselnden Zimmertemperatur zuzuschreiben, die sich bei diesem umfangreichen Apparaten nicht ausschalten ließ. Die Ziffern der Parallelbestimmungen stimmen recht befriedigend überein.

Dieser Versuch wurde ergänzt durch einen ganz ähnlichen Versuch mit altem zersetzten Stroh. Dasselbe hatte elf Monate lang mit Jauche in einem großen Topfe gestanden, das verdunstete Wasser war von Zeit zu Zeit ersetzt worden. Vor dem Versuch wurde das Stroh kurze Zeit im Trockenschrank bei 80° getrocknet, und dann genau so verwendet wie im vorhergehenden Versuch.

Tabelle III.
Kohlensäurebildung aus anaerobiotisch vergorenem Stroh.

	Gesamtmenge in mg						Tägliche Menge in mg					
	A Stroh		B Stroh+Nitrat		C Nitrat		A Stroh		B Stroh+Nitrat		C Nitrat	
Nach 1 Tag . .	33	31	30	32	13	12	33	31	30	32	13	12
„ 2 Tagen .	58	54	47	58	13	15	25	23	17	26	0	3
„ 3 „ . .	96	82	77	87	14	15	38	28	30	29	1	0
„ 4 „ . .	127	111	107	118	15	14	31	29	30	31	1	0
„ 5 „ . .	158	142	143	157	17	15	31	31	36	39	2	0
„ 6 „ . .	182	168	171	189	26	22	24	26	28	32	9	7
„ 8 „ . .	221	204	218	233	26	24	20	19	24	22	0	2
„ 9 „ . .	244	224	232	254	25	24	23	20	14	21	0	0

Die Zahlen zeigen einmal, daß kein Stickstoffminimum eingetreten ist, daß also das mit Jauche gesättigte Stroh auch nach kurzem Trocknen noch genügend Stickstoff enthält, um die Stroh zersetzenden Organismen vollauf zu versorgen. Der Versuch entspricht mehr einer Mistdüngung als einer Strohdüngung, und beweist, daß bei einer Mistdüngung ein Stickstoffminimum, also eine Pflanzenschädigung nicht zu erwarten ist.

Der Versuch zeigt ferner, daß dieses fast ein Jahr lang zersetzte Stroh noch ein sehr guter Nährstoff für aerobiotische Organismen ist. Die entwickelte Kohlensäuremenge ist nicht viel kleiner als die aus frischem Stroh. Dies ist eigentlich selbstverständlich, wird aber von Bodenbakteriologen manchmal außer Acht gelassen. Bei anaerobiotischen Vorgängen findet nur eine Umlagerung der Atome innerhalb des Moleküls statt, die Oxydationsmöglichkeit wird dadurch in keiner Weise geändert. Zur Oxydation eines Moleküls Zucker braucht man genau soviel Sauerstoff wie zur Oxydation von 2 Molekülen Alkohol, die bei der Vergärung von einem Molekül Zucker entstehen. Es ist daher auch recht wahrscheinlich, daß anaerobiotisch vergorener Mist den denitrifizierenden Bakterien als Energiequelle dienen kann. Beim Düngerhaufen des Landwirts werden allerdings infolge der großen Luftoberfläche auch Oxydationen in ziemlich reichem Maße stattfinden. Immerhin ist anzunehmen, daß der Unterschied zwischen Strohdüngung und Mistdüngung nicht auf dem verschiedenen Grade der Strohzersetzung, sondern vielmehr auf dem Eintreten oder Ausbleiben des Stickstoffminimums beruht.

Tabelle IV.
Kohlensäurebildung aus aerobiotisch zersetztem Stroh

	Gesamtmenge in mg						Tägliche Menge in mg					
	Nitrat		Ammoniak		ohne Stickstoff		Nitrat		Ammoniak		ohne Stickstoff	
Nach 1 Tag . .	26	27	23	23	20	20	26	27	23	23	20	20
„ 2 Tagen .	56	55	47	52	34	40	30	28	24	29	14	20
„ 3 „ .	103	94	79	86	54	55	47	39	32	34	20	15
„ 4 „ .	152	147	107	116	66	69	49	53	28	30	12	14
„ 6 „ .	242	234	149	162	86	91	45	44	21	23	10	11

Zum Vergleich dient ferner ein 5 Monate altes, verrottetes Stroh. 900 g Sand waren mit 60 g gemahlenem Stroh gemischt und mit einer Lösung von 0,05 g NH_4Cl und 0,02 g K_2HPO_4 in 200 ccm Wasser angefeuchtet. Dies Gemisch hatte 5 Monate bei 24° gestanden. Die

Strohteilchen waren namentlich an der Oberfläche des Sandes schwarz geworden, und zwar durch Einlagerungen, die ich für Perithecien eines Fadenpilzes hielt. Von diesem aerobiotisch zersetztem Strohgemisch wurden je 100 g abgewogen und ohne Zusatz, mit 0,040 g $NaNO_3$ oder mit 0,031 g $(NH_4)_2SO_4$ auf Kohlensäurebildung untersucht.

Die Versuchsbedingungen liegen hier etwas anders als bei den vorhergehenden Versuchen, denn die Strohmenge ist viel größer, etwa 6% des Gesamtgewichtes. Anstatt Erde ist reiner Sand genommen. Auch der Wassergehalt ist erheblich höher wegen der größeren Menge organischer Substanz, nämlich 26%.

Die Atmungsintensität ist, nachdem das durch die Umarbeitung des Gemisches gestörte Gleichgewicht wieder hergestellt ist, durch Ammoniak verdoppelt, durch Nitrat vervierfacht worden. Die geringe anfängliche Stickstoffgabe von 0,23 mg auf 1 g Stroh, gegen 6 mg in den Vorversuchen, hat nicht genügt, um das Stickstoffminimum in 5 Monaten zu überwinden. Die geringere Wirkung des Ammoniaks läßt auf einen anderen Zersetzungstypus schließen, vielleicht auch auf ein weniger sparsames Wirtschaften der Mikroorganismen mit dem für die meisten Arten leichter verwertbaren Ammoniak. — Die tägliche Kohlensäuremenge ist nicht groß, wenn man bedenkt das hier etwa viermal soviel Stroh vorhanden ist als in den vorigen Versuchen. Dies ist eine Folge der langen aerobiotischen Zersetzung.

Um festzustellen, in wie kurzer Zeit bei Stroh- und Stickstoffgabe das Stickstoffminimum überwunden wird, wurde folgender Versuch angestellt: Je 1 kg lufttrockener Dahlemer Erde wurde mit 10 g lufttrockenem, gemahlenem Roggenstroh und 100 ccm Wasser gut durchgemischt und in tarierte Emailleschalen getan. Reihe I erhielt 0,40 g

Tabelle V.
Kohlensäurebildung aus Stroh nach zweimaliger Stickstoffgabe

	Gesamtmenge in mg						Tägliche Menge in mg					
	Nitrat		Ammoniak		kein Stickstoff		Nitrat		Ammoniak		kein Stickstoff	
Nach 1 (18) Tagen	18	32	25	31	28	26	18	32	25	31	28	26
„ 2 (19) „	42	47	53	57	61	58	24	15	28	26	33	32
„ 3 (20) „	72	74	80	76	85	71	30	27	27	19	24	13
„ 5 (22) „	94	115	110	107	124	104	11	21	15	16	20	16

$NaNO_3$, Reihe II 0,31 g $(NH_4)_2SO_4$ Reihe III blieb ohne Zusatz. Die Erden standen bei tiefer Zimmertemperatur und wurden wöchentlich nach Ersatz des verdunsteten Wassers umgerührt.

Nach 17 Tagen wurde von Reihe II sechsmal 111 g Erde, entsprechend 100 g Trockenerde, abgewogen. Zwei davon wurden auf ihre Atmungsintensität ohne weiteren Zusatz untersucht, zwei nach Zusatz von 40 mg $NaNO_3$ und zwei nach Zusatz von 31 mg $(NH_4)_2SO_4$.

Zwischen den Reihen mit und ohne erneuten Stickstoffzusatz ist kein Unterschied. Eine Vermehrung der Mikroorganismen durch die neue Stickstoffgabe hat also nicht stattgefunden. Demnach ist also die Vermehrung nicht durch ein Stickstoffminimum angehalten. Das Stickstoffminimum ist also in diesem Falle bereits nach 17 Tagen überwunden.

Tabelle VI.

Kohlensäurebildung aus Stroh nach zweimaliger Stickstoffgabe

Gesamtmenge in mg

Anfängliche Stickstoffgabe	40 mg Nitrat				31 mg Ammonsulfat				Kein Stickstoff			
Nach 21 Tagen	40 mg Nitrat		0		40 mg Nitrat		0		40 mg Nitrat		0	
Nach 1 (22) Tagen	14	14	14	14	12	11	11	10	11	9	6	6
„ 2 (23) „	28	25	26	27	26	22	24	21	30	28	13	11
„ 3 (24) „	43	39	46	43	40	33	36	31	51	48	20	16
„ 4 (25) „	56	50	61	57	52	44	45	41	68	64	29	20
„ 5 (26) „	68	62	77	70	64	55	57	51	87	81	36	26
„ 7 (28) „	91	81	105	97	83	71	77	73	127	115	49	36
„ 8 (29) „	102	89	114	106	89	76	84	80	136	127	54	40

Tägliche Menge in mg

Anfängliche Stickstoffgabe	40 mg Nitrat				31 mg Ammonsulfat				Kein Stickstoff			
Stickstoffgabe Nach 21 Tagen	40 mg Nitrat		0		40 mg Nitrat		0		40 mg Nitrat		0	
Nach 1 (22) Tagen	14	14	14	14	12	11	11	10	11	9	6	6
„ 2 (23) „	14	11	12	13	14	11	13	11	19	19	7	5
„ 3 (24) „	15	14	20	16	14	11	12	10	21	20	7	5
„ 4 (25) „	13	11	15	14	12	11	9	10	17	16	9	4
„ 5 (26) „	12	12	16	13	12	11	12	10	19	17	7	6
„ 7 (28) „	12	10	14	14	9	8	10	11	20	17	7	5
„ 8 (29) „	11	8	9	9	6	5	7	7	9	12	5	4

Nach 21 Tagen wurden alle Erdproben in derselben Weise untersucht, ob sich durch weitere Stickstoffgabe noch ein Stickstoffbedürfnis nachweisen läßt. Es wurde nur Nitrat gegeben.

Die erste Ammoniak- oder Nitratgabe hat bereits genügt, um das Stickstoffminimum in 21 Tagen, wahrscheinlich schon früher zu überwinden. Erneute Stickstoffgabe verursacht keine Steigerung der Atmungsintensität, also keine Vermehrung der Bodenorganismen. In den anfangs nicht mit Stickstoff gedüngten Erden ist dagegen der Stickstoffhunger sehr ausgeprägt. Die Atmungsintensität steigt nach Nitratgabe auf das Dreifache. Selbstverständlich ist die Kohlensäurebildung der nach 21 Tagen zum erstenmale gedüngten Erden größer als die der zu Anfang gedüngten Proben, da die letzteren in den 21 Tagen bereits eine erhebliche Menge der leicht angreifbaren Strohbestandteile zersetzt haben.

Daß auch hier Ammoniak und Salpeter verschiedene biologische Prozesse ausgelöst haben, zeigt ein Vergleich derjenigen Proben, die zum zweiten Male keinen Stickstoff erhalten hatten. Das Verhältnis der Atmungsintensitäten ist 4 : 3. Wiederum bewirkte also der Salpeter die stärkere Atmung.

Will man aus diesen Ergebnissen eine Nutzanwendung für die Landwirtschaft ableiten, so muß man bedenken, daß die bei diesen Versuchen verwendete Strohmenge von 1 % eine Strohdüngung von rund 300 Doppelzentnern oder einer Stallmistdüngung von rund 1 200 Doppelzentnern auf den Hektar bedeutet, also den 4—5 fachen Betrag einer normalen Düngung darstellt. In diesem Falle hat eine Salpetergabe von 40 mg auf 100 g Erde neben den bereits im Boden vorhandenen 1,8 mg löslichen Stickstoffs genügt, um das Stickstoffminimum zu überwinden, also im ganzen 8 mg Stickstoff in löslicher Form auf 100 g Erde. Dann würde für die beim Ackerbau üblichen Strohmengen ein Viertel dieses Betrages, also etwa 2 mg, genügen. Soviel Nitrat- und Ammoniakstickstoff ist aber in normalen, unbestellten Böden gewöhnlich vorhanden. Überdies düngt der Landwirt selten mit Stroh, sondern meistens mit Mist, der unter ungünstigen Bedingungen immer noch 0,1 % Stickstoff in leicht assimilierbarer Form enthält, also 0,8 mg Stickstoff auf 100 g Erde bei einer Düngergabe von 200 Doppelzentnern. Bei Stallmistdüngung ist daher ein Stickstoffminimum nicht zu erwarten, es müßte sich denn um einen sehr stickstoffarmen Mist in reinem Sande handeln. Auch eine Schädigung der Kulturpflanzen durch untergepflügte Stoppel oder tote Wurzeln ist bei den Verhältnissen der praktischen Landwirtschaft kaum denkbar. Dasselbe gilt für Gründüngung.

Bei reiner, sehr starker Strohdüngung kann dagegen auf leichten Böden ein Stickstoffminimum eintreten. Denkbar ist ein solcher Zustand ferner, wenn man Dünger und Jauche getrennt aufbewahrt und nur den festen Dünger streut. Ein Stickstoffminimum besteht sicher in den Komposthaufen, wenn dort nicht zugleich auch Kot, Mist und andere stickstoffreichere Substanzen verrotten. Deshalb müssen Komposthaufen lange Zeit, mindestens zwei Jahre, stehen bleiben, ehe sie zur Düngung gebraucht werden.

Dem Stickstoffminimum kann durch Stickstoffdüngung leicht abgeholfen werden. Wo es sich voraussehen läßt, kann man sein Entstehen durch rechtzeitige Düngergabe verhindern. Setzen wir den Fall, daß ein Stück äußerst sandigen Landes durch Stroh verbessert werden soll, so muß man, um in absehbarer Zeit Ernten zu erzielen, nach der Strohdüngung auch Stickstoff geben, und zwar am besten wohl zu wiederholten Malen in kleinen Mengen. Dazu könnte man, um ganz sicher zu gehen, das Feld im ersten Jahre mit Leguminosen bestellen. Der zur Überwindung des Stickstoffminimums verwendete Stickstoff ist natürlich festgelegt und wird den Pflanzen vorerst nicht zugänglich sein, sondern sie nur gegen Stickstoffentziehung schützen.

Die Annahme eines Kohlenstoff- und Stickstoffminimums gewährt auch einen Ausblick auf die Stickstoffbindung im Ackerboden. Diese Frage soll hier nur ganz kurz gestreift werden, da keine Versuche angestellt wurden. Zur Stickstoffbindung gehört eine Energiequelle, die bei den bisher bekannten Organismen organischer Natur ist. Im normalen Ackerboden können also nur diejenigen Organismen Stickstoff in nennenswerten Mengen binden, die imstande sind, die schwerer zersetzlichen Stoffe zu benutzen. Leicht zersetzliche Stoffe stehen ihnen nur zur Zeit des Stickstoffminimums zur Verfügung, und dieser Zustand tritt äußerst selten ein. Eine dauernde Vermehrungsmöglichkeit besteht nur an der Erdoberfläche, wo Blätter und andere Pflanzenreste bei vollem Luftzutritt verrotten und immer wieder ergänzt werden. Die Lebenstätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien wird dann, wenn ihnen eine Energiequelle zur Verfügung steht, durch das Stickstoffminimum natürlich nicht berührt.

II. Die Schädigung der Keimlinge durch organische Substanz.

Neben der durch Stickstoffmangel hervorgerufenen Verkümmerung der Pflanzen bei Düngung mit organischen Substanzen ist gelegentlich noch eine andere Art der Schädigung bemerkt worden, die das Keimlings-

stadium betrifft und die auf der Bildung irgend welcher Giftstoffe zu beruhen scheint. Als besonders krasse Fälle möchte ich die Beobachtungen von Koch[1]) und von Fred[2]) erwähnen. Koch hatte in Versuchstöpfen Sand mit 2% Zucker versetzt. In den Jahren 1907 und 1908 „gingen die Keimpflanzen in den Zuckertöpfen zu Grunde, sobald sie die ersten wirklichen Blätter entwickeln wollten. Nach ihrer dunkelgrünen Färbe zu urteilen, hatten sie aber reichlich Stickstoff zur Verfügung. Endlich im Jahre 1909 überwanden wenigstens einige der Buchweizenkeimlinge die schädliche Wirkung der giftigen Umsetzungsprodukte des Zuckers.“ Fred fand eine sehr starke Beeinträchtigung der Samen von Baumwolle, Soja und Hanf, nicht aber von Mais und Getreide durch Gründüngung. Die Art des Gründüngers ist ziemlich gleichgültig. In sterilisiertem Boden mit Gründüngung findet keine Schädigung statt. Kalk verhindert die Wirkung nicht. In schweren und nassen Böden ist die Wirkung stärker. Pepton und Kasein von gleichem Stickstoffgehalt wie die Gründüngung schaden nicht. Lösliche Kohlehydrate verzögern die Keimung, verursachen aber kein Verfaulen des Samens wie die Gründüngung. Kohlensäure und Ammoniak wurden niemals in genügender Menge gefunden, um die beobachtete Schädigung zu erklären. Am empfindlichsten war Baumwollsaat, die noch auf 0,25% Gründüngung reagierte. 25 Tage nach der Düngung war die schädliche Wirkung verschwunden.

Die Möglichkeit der Entstehung von Giftstoffen scheint hiernach gegeben, und es wurde versucht, ob auch bei Strohdüngung etwas Ähnliches sich zeigen würde. Gartenerde wurde mit $^1/_2$% und mit 5% Stroh gemischt. Die Erden standen in Emailleschalen bei 20—22°. In kurzen Zwischenräumen wurden je 10 Samen von Roggen, Lupine und Raps gepflanzt. Die Keimlinge wurden entfernt, wenn sie so groß waren, daß sie im Dunkeln sich nicht mehr normal entwickeln konnten. Die folgende Tabelle zeigt die Anzahl der gekeimten Samen zu verschiedenen Zeiten nach der Strohgabe.

Ein schädlicher Einfluß des Strohs auf die Keimung und auf die jungen Pflänzchen ist nicht zu bemerken. Beim Raps ist sogar eine ausgesprochen günstige Wirkung zu verzeichnen.

Eine Wiederholung des Versuchs in kleinerem Maßstabe mit Sand anstatt Erde ergab ebenfalls keine Schädigung.

---

[1]) Journal für Landwirtschaft 57, 1909, 276.

[2]) Zentralbl. Bakteriol. II. Abt. 45, 381.

Tabelle VII.

Keimung in der Erde bei Strohzusatz.

Anzahl Keimlinge von je 10 Samen.

Anzahl der Tage nach der Strohgabe		0	2	4	7	14	20	34	Mittelwert
Roggen . .	ohne Stroh	10	9	9	10	9	9	8	9,1
	½ % „	10	9	7	10	10	9	8	9,0
	5 % „	9	10	10	10	9	9	9	9,4
Lupine . .	ohne Stroh	8[1]	7	6	8	7	2	6	6,0
	½ % „	2[1]	8	6	7	3	8	8	6,7
	5 % „	2[1]	7	10	5	3	4	8	6,2
Raps. . .	ohne Stroh	6	5	3	5	2	6	3	4,3
	½ % „	5	4	5	4	2	7	5	4,6
	5 % „	7	7	8	7	6	3	6	6,3

Dagegen ließ sich mit Gründüngung in Sand sehr energische Giftwirkung erzielen. Als Gründüngung diente in Ermangelung anderen Pflanzenmaterials Grünkohl, der in Mengen von 5 % des Sandgewichts verwandt wurde. Als Versuchspflanzen dienten Roggen und Lupine. Da die hier verwendete Gründüngermenge sehr viel größer ist als beim üblichen Feldbau, sollen die Ergebnisse nur ganz kurz mitgeteilt werden. Die Keimung der unmittelbar nach der Düngung gepflanzten Samen erfolgt normal. Erst nach 5—7 Tagen tritt eine merkliche Zersetzung der Düngermasse ein. Die Pflanzen zeigen stets kräftige Grünfärbung, verkrümmen sich aber und bleiben in der Entwicklung stehen. Beim Herausnehmen der Pflänzchen aus dem Sande sieht man, daß die Wurzel abgefault ist, und daß selbst 10 cm hohe Roggenpflanzen überhaupt keine Wurzel unterhalb des Samenkorns zeigen. Bei den Lupinen dringen dann Bakterien in die Wurzelstümpfe und erweichen allmählich auch den Stengel, so daß die Pflanze umfällt. Die Ursache der Wurzelfäulnis ist vermutlich das gebildete Ammoniak, das man in den zugedeckten Glasbehältern deutlich riechen konnte. Mit 2,5 mg NH_3 in Form von Ammonkarbonat auf 100 g Sand ließen sich die gleichen Krankheitserscheinungen bei Lupinen hervorrufen, 5 mg taten das Gleiche bei Roggen. In 2 verschiedenen Gefäßen mit Gründüngung wurden 7,5 und

[1]) Die hartschaligen Lupinensamen keimten sehr unregelmäßig. Bei allen späteren Versuchen wurde daher die Samenschale eingeritzt. Die ersten Werte sind von den Mittelwerten ausgeschlossen.

22,4 mg Ammoniak festgestellt, also Mengen, die zur Erklärung der Erkrankung vollauf genügen. Sogar ein Zehntel der hier angewandten Gründüngungsmasse würde Lupinen noch schädigen können, vorausgesetzt daß die Zersetzung bei dieser geringeren Düngung genau ebenso verläuft. Dies wäre $^{1}/_{2}$ % Gründüngung. Wir nähern uns damit der Empfindlichkeitsgrenze, die Fred für Baumwollsaat fand, nämlich 0,25 %.

Das Erweichen der Lupinenstengel durch ein Stäbchen aus der Gruppe der verflüssigenden Coliarten, zu welcher eine Anzahl pflanzenpathogener Bakterien gehören, legte die Vermutung nahe, daß vielleicht diese Bakterien durch die Gründüngung sich in solchem Maße entwickeln, daß sie die Pflanzen angreifen. Eine Anzahl von Versuchen mit Reinkulturen dieser Bakterien in Symbiose mit Lupinenkeimlingen in Sand- und Wasserkulturen zeigten jedoch übereinstimmend, daß die Bakterien nicht imstande sind, in die gesunde Pflanze einzudringen. Auch direkte Impfung erwies sich erfolglos. Das regelmäßige Auftreten in wurzelfaulen Lupinen muß also als eine sekundäre Erscheinung angesprochen werden, die erst eintritt, nachdem die Wurzel zuvor durch Ammoniak vergiftet ist.

III. Zusammenfassung.

Im normalen Ackerboden befinden sich die leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen im Minimum. Daher können Ammoniak und Salpetersäure sich ansammeln. Bei Zusatz von Stroh oder anderer stickstoffarmer Pflanzensubstanz setzt eine starke Vermehrung der Mikroorganismen ein, und es kann ein Stickstoffminimum entstehen. Dieses wird solange anhalten, bis alle leicht zersetzlichen Kohlenstoffverbindungen zerstört sind. Das Stickstoffminimum wird bei stickstoffarmen Böden leichter eintreten und länger anhalten als bei stickstoffreichen. Während dieses Zustandes können die Pflanzen dem Boden keinen Stickstoff entnehmen.

Bei Stallmistdüngung in den üblichen Mengen ist ein Stickstoffminimum nicht zu befürchten, da der Gehalt des Mistes an leicht assimilierbaren Stickstoffverbindungen zusammen mit den löslichen Stickstoffverbindungen des Bodens genügt, um den Ansprüchen der strohzerstörenden Organismen gerecht zu werden. Ein Stickstoffminimum ist dagegen bei reiner Strohdüngung und in Komposthaufen möglich. Es kann durch Stickstoffdüngung schnell beseitigt werden. Dieser Stickstoff wird dann aber zum größten Teile festgelegt, bei ungünstigen Witterungs- und Bodenverhältnissen wohl auch denitrifiziert werden, so

daß er den Pflanzen nicht unmittelbar zugute kommt. Die Stickstoffdüngung ist aber die einzige Möglichkeit, um über den Zustand des Stickstoffminimums schnell hinwegzukommen.

Bei den wenigen Versuchen, in denen Ammoniak mit Nitrat verglichen wurde, hat sich in jedem Falle das Nitrat als die wirksamere der beiden Stickstofformen erwiesen.

Bei der anaerobiotischen Zersetzung des Strohs sind die Endprodukte der Gärung noch eine gute Kohlenstoffquelle für viele Aerobier, wahrscheinlich auch für denitrifizierende Bakterien. Dies ist eine notwendige Folge der Energiebilanz aller anaerobiotischen Vorgänge.

Eine Schädigung der jungen Keimlinge durch Giftstoffe, welche bei der Zersetzung stickstoffarmer organischer Substanzen entstehen, ist unter den üblichen Bedingungen des Ackerbaus unwahrscheinlich. Es gelang zwar, in reinem Sande mit einer Pflanzenmasse, die das Vielfache einer normalen Gründüngung darstellt, eine derartig starke Ammoniakbildung zu erzielen, daß die Pflanzenwurzeln abgeätzt wurden. Derartige Verhältnisse sind aber in der praktischen Landwirtschaft nicht zu erwarten.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration und ihre Bedeutung für die Lebensmittelchemie[1]

von

Heinrich Lüers

Die großen Errungenschaften der allgemeinen und physikalischen Chemie, welche wir in erster Linie Forschern wie Arrhenius, Nernst, van't Hoff, Ostwald und anderen mehr verdanken, haben sich vom heutigen Standpunkt aus betrachtet als außerordentlich befruchtend für alle Zweige der theoretischen und angewandten Chemie erwiesen und haben zu einem nicht geringen Teil zu den Erfolgen der gesamten chemischen Wissenschaft in den letzten Dezennien beigetragen.

Auch auf dem Gebiete der Lebensmittelchemie hat man seit etwa 15—20 Jahren begonnen, immer mehr und mehr die physikalisch-

[1]) Habilitationsvortrag, gehalten am 21. August 1919 an der chemischen Abteilung der Technischen Hochschule in München.

chemischen Methoden zur Lösung der auf diesem Gebiete eine Rolle spielenden Fragen heranzuziehen. Man hatte etwa auch hier, wie vorher schon in anderen Wissenschaften, z. B. der Physiologie, Biologie, Biochemie und Medizin erkannt, daß zahlreiche Probleme auf dem Gebiete der so außerordentlich kompliziert zusammengesetzten und subtilen Systeme, wie sie uns in den Lebensmitteln entgegentreten, ausschließlich mit rein analytischen Methoden nicht restlos zu lösen seien. Dagegen durfte man erwarten, mit Hilfe der physikalisch-chemischen Methoden und in neuester Zeit mit jenen der Kolloidchemie in der Erkenntnis der wahren Zusammensetzung der Lebensmittel, der Vorgänge bei ihrer Entstehung und Verarbeitung, der ihren Nährwert bedingenden Faktoren, sowie ihres Verhaltens im menschlichen Organismus einen großen Schritt nach vorwärts zu machen.

Unter den Problemen der Lebensmittelchemie, welche vor allem einer physikalisch-chemischen Bearbeitung zugänglich sind, steht an erster Stelle die Aziditätsfrage. Mit dieser sollen sich nun die weiteren Ausführungen eingehender befassen.

Ein großer Teil der Nahrungs- und Genußmittel, vor allem jene, welche im flüssigen Aggregatzustand auftreten, weist eine ganz bestimmte, vorwiegend schwach saure Reaktion auf. Sie ist teils durch die Herstammung des betreffenden Lebensmittels, teils durch die Vorgänge, welche bei seiner Verarbeitung aus Primärprodukten eine Rolle spielten, charakterisiert. Da die Azidität eine Komponente vieler Nahrungs- und Genußmittel ist, welche wertvolle Richtlinien zur Beurteilung derselben an die Hand gibt, wird sie fast immer im Analysengang quantitativ ermittelt. Je nach der Natur des einzelnen Lebensmittels ist dabei das zur Bestimmung der Azidität benützte Titrierverfahren den besonderen Verhältnissen angepaßt. Durch ein derartiges Titrierverfahren ermitteln wir die gesamte Menge der vorhandenen Säure, die sogenannte potentielle Azidität.

Es hat sich aber auf Grund der Erfahrungen in der allgemeinen und theoretischen Chemie und in praktischer Anwendung dieser Erfahrungen in der Physiologie, Biologie usw. herausgestellt, daß zur Beurteilung sehr vieler mit der Azidität zusammenhängender Fragen nicht so sehr die Menge an titrierbarer, also potentieller Azidität maßgebend ist, sondern vielmehr die Menge an freier Säure, die aktuelle Azidität, oder die Wasserstoffionenkonzentration.

Auch auf dem Gebiete der Lebensmittelchemie hat sich die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in theoretischer und prak-

tischer Beziehung weitgehend gezeigt. Am Schlusse dieser Ausführungen sollen diesbezügliche Beispiele angeführt werden.

Es erhebt sich nun in erster Linie die Frage: Welche Methoden stehen uns jetzt zur Verfügung, um die Wasserstoffionenkonzentration zu messen und inwieweit sind sie geeignet, dem besonderen Zweck der Lebensmittelchemie zu dienen.

Da müssen wir nun als erstes feststellen, daß sämtliche Titrationsverfahren in Verfolgung dieses Zieles völlig versagen, da wir während der Titration das in der Lösung vorhandene Gleichgewicht fortlaufend stören. Haben wir es mit einer Lösung einer reinen Säure zu tun, deren chemische Natur uns bekannt ist, so ist es allerdings möglich, durch Ermittlung der Gesamtkonzentration auf titrimetrischem Wege und mit Hilfe ihres bekannten Dissoziationsgrades, die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung zu ermitteln. Bei den Lebensmitteln haben wir es aber niemals mit derartigen einfachen Lösungen einer Säure zu tun, sondern sie stellen vielmehr ein außerordentlich kompliziert zusammengesetztes System vor, an dessen Aufbau sich gewöhnlich mehrere freie Säuren, ihre verschiedenen Salze und so und so viele andere Neutralsalze beteiligen. Schon zwei Säuren beeinflussen sich je nach der Größe ihrer Dissoziationskonstanten in ihrer Dissoziation und sehr erheblich wird diese Beeinflussung, wenn z. B. bei schwächeren Säuren zugleich deren Alkalisalze gegenwärtig sind, ein Fall, der bei den meisten Lebensmitteln vorliegt. Ein Beispiel möge hier das völlige Versagen der Titrationsmethode beleuchten, wenn es sich darum handeln soll, den Säuregrad oder die Wasserstoffionenkonzentration einer solchen Lösung zu ermitteln[1]).

Nehmen wir an, wir haben eine n/10-Essigsäure. 1 l dieser Lösung verbraucht 100 ccm n-Alkali bis zum Phenolphthaleinumschlag. Die Wasserstoffionenkonzentration können wir uns nach der für schwache Säuren geltenden Formel

$$[H^{\cdot}] = \sqrt{k \cdot [\text{Essigsäure}]}$$

berechnen, worin k die Dissoziationskonstante und [Essigsäure] die Konzentration der Essigsäure in Mol/1 bedeutet. In unserem Falle ergibt sich also $[H^{\cdot}] = \sqrt{1{,}86 \cdot 10^{-5} \cdot 10^{-1}} = 1{,}36 \cdot 10^{-3}$

Nun nehmen wir an, wir haben im Liter dieser n/10-Essigsäure noch so viel Natriumazetat aufgelöst, daß die Lösung daran ebenfalls n/10 geworden ist. Die Menge der Lauge, welche wir zur Neutralisierung

[1]) Siehe ausführlicher bei L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration.

eines Liters brauchen, wird wiederum 100 ccm n-Alkali betragen, also ganz die gleiche Menge wie vorher. Dagegen hat die Wasserstoffionenkonzentration eine bedeutende Abnahme erfahren, weil wir durch das Auflösen des sehr vollkommen dissoziierten Natriumazetates eine große Menge an Azetat-Ionen in die Lösung brachten, welche, da das Massenwirkungsgesetz nach wie vor zu Recht bestehen muß, zur Folge haben, daß ein großer Teil der Wasserstoffionen sich zu undissoziierten Essigsäuremolekülen vereinigen. Die nunmehr bestehende Wasserstoffionenkonzentration können wir uns durch folgende, für den vorliegenden Zweck völlig ausreichende Formel berechnen.

$$[H^{\cdot}] = \frac{1{,}86 \cdot 10^{-5}}{0{,}87} \cdot \frac{10^{-1}}{10^{-1}} = 2{,}13 \cdot 10^{-5}$$

Die $[H^{\cdot}]$ ist also um den 60fachen Betrag niedriger als vorher.

Das Titrationsverfahren sagt uns also in diesem Falle über den herrschenden Säuregrad gar nichts aus.

Es ist ganz einleuchtend, daß beide Lösungen trotz gleicher Titrationsazidität, also potentieller Säure sich völlig anders verhalten müssen, sobald es sich um die Wirkungen der aktuellen Azidität oder des Säuregrades handelt, also beispielsweise in physiologischer Beziehung hinsichtlich ihres Geschmackes oder bei der katalytischen Beschleunigung chemischer Reaktionen, der Fermentaktivierung und dergl. mehr.

Nachdem wir uns an diesen Beispielen von der Unzulänglichkeit der Titrationsverfahren zur Säuregradermittlung überzeugt haben, wollen wir zu den hiefür geeigneten Methoden übergehen. Alle diese Methoden müssen die eine Grundbedingung erfüllen, das in der zu messenden Lösung bestehende Gleichgewicht nicht, oder nur so wenig als möglich zu stören. Wir unterscheiden nun drei Typen solcher Methoden: Zur ersten Gruppe gehören diejenigen, welche gestatten, die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion, die unter dem katalysierenden Einfluß des Wasserstoffions eine merkliche Beschleunigung erfährt, zu messen. Die zweite Gruppe umfaßt die Methoden, bei welchen aus der Arbeitsfähigkeit chemischer Systeme, welche der Konzentration an $H^{\cdot}$-Ionen proportional ist, auf diese selbst geschlosen wird, und zur dritten Gruppe endlich gehören die kolorimetrischen Methoden, welche gestatten, durch die Färbung eines Indikators von bekanntem Umschlagspunkt den Säuregrad der Lösung zu ermitteln.

Als erste Methode, welche auf der katalytischen Wirkung des Wasserstoffions beruht, sei die Verseifung eines Esters, z. B. des Me-

thylazetats genannt. Methylazetat zerfällt bekanntlich in wässeriger Lösung nach der Gleichung

$$CH_3 \cdot COO \cdot CH_3 + HOH \gtrless CH_3 \cdot COOH + CH_3OH$$

Der Gleichgewichtszustand hängt ab von der Menge der aufeinander reagierenden Substanzen und der Temperatur. Die Gegenwart von Wasserstoffionen beschleunigt den Vorgang außerordentlich, besonders wenn man höhere Temperaturen wählt. Den zeitlichen Verlauf der Reaktion kann man dadurch verfolgen, daß man von Zeit zu Zeit Proben aus der Flüssigkeit entnimmt und titrimetrisch die Menge der erstandenen freien Säure ermittelt. Aus den auf solche Weise erhaltenen Zahlen läßt sich dann die Verseifungskonstante, welche der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration proportional ist, nach folgender Beziehung ermitteln:

$$-\frac{dx}{dt} = k \cdot (C-x),$$

d. h die im Zeitteilchen dt umgewandelte Menge dx des Esters muß der jeweils herrschenden Konzentration an unverseiftem Ester proportional sein. Das negative Vorzeichen bedeutet, daß es sich hier um eine Abnahme der Esterkonzentration handelt. k ist eine Konstante, die Verseifungsgeschwindigkeitskonstante. Für den praktischen Gebrauch wird die Gleichung durch Integration am besten umgeformt in

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C_t} \text{ oder } \frac{\log C_0 - \log C_t}{0{,}4343 \cdot t}$$

worin t die verstrichene Zeit, C_0 die Anfangskonzentration, C_t die Konzentration des Esters bei der Zeit t und 0,4343 der Umrechnungsfaktor des natürlichen Logarithmus mit der Basis 2,718 ... auf den dekadischen Logarithmus mit der Basis 10 bedeutet. Zur Umrechnung der Konstanten auf den Säuregrad ermittelt man unter Zuhilfenahme einer bekannten verdünnten Säurelösung die Konstante, welche beispielsweise einer Lösung von 1 g $H^{\cdot}$ im Liter entspricht.

Diese eben beschriebene Methode der Esterverseifung ist von Theodor Paul bereits mit bestem Erfolg zur Messung des Säuregrades im Wein durchgeführt worden[1]).

Ein Nachteil der Methode besteht vor allem darin, daß sie bei niedrigen Säuregraden sehr lange Zeit, oft Tage in Anspruch nimmt. Der Anwendbarkeit sehr hoher Temperaturen ist dadurch eine Grenze gesetzt, daß die meisten Lebensmittel bei solchen Temperaturen tiefgreifende Änderungen ihres Gleichgewichtszustandes erleiden.

---

[1]) Th. Paul und A. Günther, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, XXIII, Heft 1, 1905 und XXIX, Heft 1, 1908.

In der Gegend von etwa 10^{-5} n Wasserstoffionen dürfte die Grenze ihrer Anwendbarkeit liegen. Auch Neutralsalze vermögen bei niedrigen Säuregraden ihren Einfluß in mehr oder minder starkem Maße geltend zu machen.

Die zweite Methode, auf dem gleichen Prinzip beruhend, ist die von Bredig und Fränkel[1]) studierte Spaltung des Diazoessigesters durch H˙-Ionen in Stickstoff und Glykolsäureester nach der Gleichung

$$N_2 \cdot CH \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O = N_2 + CH_2OH \cdot COOC_2H_5$$

Der Zerfall dieses Esters wird von Wasserstoffionen in wesentlich höherem Maße beschleunigt, als es bei der analogen Esterverseifung und der gleich nachher zu besprechenden Zuckerinversion der Fall ist. So soll nach Bredig bei einer $[H^{\cdot}] = 2 \times 10^{-3}$ und einer Temperatur von 20^0 schon in $^3/_4$ Stunden die Hälfte des Esters zerfallen sein. Die zeitliche Verfolgung des Prozesses gestaltet sich durch gasvolumetrische Messung des in Freiheit gesetzten Stickstoffs sehr einfach. Da die Reaktion ebenso wie die zuerst erwähnte Esterverseifung eine solche erster Ordnung ist, gilt für sie das gleiche mathematische Gesetz wie für diese.

Bei der außerordentlichen Empfindlichkeit dieser Katalyse liegt es nahe, die genannte Reaktion zur Säuregradbestimmung der Lebensmittel vorzugsweise zu benutzen. Leider kommt hier aber ein Umstand in Betracht, welcher die Anwendbarkeit der Methode für diesen besonderen Zweck mehr als fraglich erscheinen läßt.

Bredig und Fränkel fanden beim Studium des Neutralsalzeinflusses auf die Esterspaltung, daß Neutralsalze die Ausbildung sogenannter falscher Gleichgewichte verursachen, die sich durch ein zu frühzeitiges Aufhören der Reaktion bemerkbar machen. Das Wasserstoffion wird nach den Feststellungen Bredigs in einer Nebenreaktion mit dem Säureanion verbraucht und damit die Hauptbedingung für die Messung der Wasserstoffionenkonzentration, nämlich die Vermeidung jeder Störung im bestehenden Gleichgewicht, nicht mehr erfüllt. In bestimmten Fällen, besonders wenn einfache Lösungen vorliegen, kann die Methode immerhin gute Dienste leisten, so hat z. B. van Dam mit ihrer Hilfe die Bindung der Milchsäure an Kasein verfolgt.

Als dritte Methode sei nun in dieser Gruppe noch die der Zuckerinversion genannt, welche Wilhelm Ostwald „von allen bisher ver-

[1]) Bredig und Fränkel, Z. f. Elektrochemie 1905, 11, 525.

suchten Verfahren zur Bestimmung von Affinitätsgrößen die genaueste und allgemeinste“ nannte. Der Vorgang ist folgender:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = \underset{\text{Dextrose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Lävulose}}{C_6H_{12}O_6}$$

Dieser Zerfall des Rohrzuckers in Invertzucker wird nun ebenfalls durch Wasserstoffionen außerordentlich beschleunigt, besonders wenn man höhere Versuchstemperaturen wählt. Es gelingt so bereits mit einer Versuchsdauer von einigen Stunden auszukommen. Der Gang der Analyse ist kurz folgender. Eine gewogene Menge reinsten Rohrzuckers wird in einem bestimmten Volumen der zu analysierenden Flüssigkeit aufgelöst, nachdem man in dieser durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf etwa 75—80° gegebenenfalls a priori vorhandene invertierende Eigenschaften vernichtet hatte. Bei konstanter Temperatur z. B. 80 oder 90° verbleibt diese Lösung dann im Thermostaten. Von Zeit zu Zeit werden Proben entnommen und in ihnen auf polarimetrischem Wege die Abnahme der Drehung und daraus die Zuckerkonzentration ermittelt. Nach der gleichen Formel, wie bei der Esterverseifung angegeben, berechnet man die Inversionskonstante, aus der man durch Vergleich mit einer bekannten Säure, z. B. $^n/_{500}$-Salzsäure auf die Wasserstoffionenkonzentration schließt. Wie Th. Paul[1]) an zahlreichen Beispielen zeigen konnte, leistet diese Methode vortreffliche Dienste.

Oftmals ist ihr allerdings eine Grenze dadurch gesetzt, daß die zur Untersuchung kommenden Lösungen stark getrübt oder gefärbt sind, so daß die Polarisation versagt. Gegen Trübungen kann man sich leicht helfen, indem man sich der neuen Ultrafilter von Wo. Ostwald oder der Membranfilter von Zsigmondy bedient, sofern durch die Ultrafiltration keine Störungen des Gleichgewichtes durch Adsorption oder sonstige physikalisch-chemische Vorgänge an den Oberflächen eintreten. Färbungen dagegen können durch Ultrafiltration gerade bei Lebensmitteln kaum beseitigt werden, so passiert z. B. die braune Farbe des dunklen Bieres glatt die Ultrafilter. Adsorption an Kohle, ein Verfahren, das öfters von Erfolg begleitet ist, ist deshalb nicht anwendbar, weil dadurch auch saure Bestandteile der Lösung entzogen werden. In solchen Fällen könnte man sich unter Umständen durch Ersetzung der Polarisation durch gewichtsanalytische Zuckerbestimmungen helfen, wodurch jedoch das Verfahren sehr wesentlich kompliziert und für den praktischen Gebrauch nicht mehr in Betracht kommen würde.

---

[1]) A. a. O.

Auch müssen wir bei dieser Methode darauf Rücksicht nehmen, daß wir außer der generellen katalytischen Fähigkeit des Wasserstoffions eine solche für die undissoziierten Säuremoleküle und auch für die übrigen Ionen in untergeordnetem Maße annehmen müssen. Der Einfluß der undissoziierten Säuremoleküle äußert sich allerdings erst in höheren Säurekonzentrationen. Dagegen tritt der Neutralsalzeinfluß bei sehr niedrigen Säuregraden, wo man höhere Temperaturen anzuwenden gezwungen ist, besonders in Erscheinung. Salze, welche die Anionen stark invertierender Säuren besitzen, üben eine merkliche Inversion aus, während die Salze schwächerer Säuren oftmals eine schützende Wirkung auf den Zucker aufweisen. Man erklärt sich den Neutralsalzeinfluß dadurch, daß man auch für die Neutralsalze bei den hohen Temperaturen eine Hydrolyse annimmt, oder nach Abegg und Bose dem Wasserstoffion eine erhöhte Beweglichkeit in Gegenwart der Neutralsalze zuspricht, was beide Forscher aus der erhöhten Diffusionsgeschwindigkeit der Säure in Gegenwart von Neutralsalzen schlossen.

Wie dem auch sei, wir müssen auf die Neutralsalzwirkungen auf jeden Fall Rücksicht nehmen, wenn der Salzgehalt unserer Lösungen ein hoher und der Säuregrad ein besonders niedriger ist.

Damit haben wir die Gruppe von Methoden erschöpft, welche auf der Messung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration durch Verfolgung der katalytischen Beschleunigung chemischer Reaktionen beruhen, und wollen uns nun kurz einer Methode zuwenden, welche aus der Arbeitsleistung, speziell der Produktion elektrischer Arbeit, die aus einem chemischen System gewonnen werden kann und der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration proportional ist, für deren Berechnung Nutzen zieht. Es ist dies die Methode der Konzentrations- oder Gasketten. Über ihre theoretischen Grundlagen muß ich mich kurz fassen[1]):

Wenn ein Metall in eine Flüssigkeit taucht, nimmt es gegen diese ein elektrisches Potential an. Nach der Nernstschen Theorie wird dem Metall die Fähigkeit zugeschrieben, mit positiver Elektrizität geladene Atome, die sogenannten Ionen in die Lösung zu senden, indem es selbst mit freier negativer Elektrizität geladen zurückbleibt. Umgekehrt haben die in der Lösung befindlichen Ionen das Bestreben, sich als unelektrische Metallatome auf der Oberfläche des Metalls niederzuschlagen, indem sie das Metall positiv aufladen. Elektrolytischer

[1]) Ausführlicher bei L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration und S. P. L. Sörensen: Aher-Spiro: Ergebnisse der Physiologie 1912.

Lösungsdruck und Entladungsdruck der gelösten Ionen stehen einander gegenüber. Aus beiden Kräften resultiert das wirkliche Potential im einzelnen Fall. Der elektrolytische Lösungsdruck ist für ein und dasselbe Metall bei gegebener Temperatur eine konstante Größe. Der Entladungsdruck ist abhängig vom osmotischen Druck in der Lösung oder, wenn wir es mit verdünnten Lösungen zu tun haben, von ihrer Ionenkonzentration. Daraus folgt die wichtige Tatsache, daß das Potential des Metalles gegen eine Flüssigkeit bei konstanter Temperatur nur von der Konzentration der in der Lösung vorhandenen Ionen des gleichen Metalles abhängt und wir somit aus der Größe des Potentials einen Rückschluß auf die Ionenkonzentration ziehen können. In der praktischen Ausführung bedient man sich zur Feststellung dieses Potentials folgender Anordnung:

Da wir Wasserstoffionen messen wollen, benützen wir eine Wasserstoffelektrode, welche aus einem Stück Platinblech oder Draht, der oberflächlich elektrolytisch mit Platinschwarz überzogen ist, hergestellt ist. Diese Elektrode taucht zum kleineren Teil in die zu untersuchende Flüssigkeit und befindet sich mit dem oberen größeren Teil in einem mit Wasserstoff erfüllten Raum. Sie stellt also gewissermaßen eine Elektrode aus dem Metall-Wasserstoff dar, da nach einem physikalischen Gesetz Elektroden aus einem edleren und unedlen Metall sich immer so verhalten, als ob sie nur aus dem unedlen Metall bestünden.

Diese Wasserstoffelektrode wird nun mit einer Kalomelquecksilber-Elektrode, die z. B. mit gesättigter Chlorkaliumlösung gefüllt ist, zu einem galvanischen Element verbunden. Zur Verbindung beider dient gesättigte Kaliumchloridlösung, durch welche das Diffusionspotential an der Berührungsstelle der beiden Elektrodenflüssigkeiten vernichtet wird. Man hat nun die elektromotorische Kraft des so zusammengesetzten Elementes zu messen, wozu man sich des bekannten Kompensationsverfahrens von Poggendorf-Du Bois-Reymond bedient. Ein Meßakkumulator arbeitet auf einem Meßdraht aus Platiniridium, ihm wird in einem Nebenstromkreis ein Weston-Normalelement von bekannter, unveränderlicher Spannung entgegengeschaltet und mit Hilfe eines Meßinstrumentes, z. B. eines empfindlichen Galvanometers oder eines Lippmannschen Kapillarelektrometers, der Punkt der Stromlosigkeit der Anordnung auf dem Meßdraht gesucht, d. h. die Größe der Akkumulatorspannung an der bekannten Spannung des Westonelementes gemessen. An Stelle des Westonelementes wird jetzt die Gaskette eingeschaltet und erneut der Punkt der Stromlosigkeit aufgesucht. Durch Division

des letzteren durch den ersteren und Multiplikation des Quotienten mit der Spannung des Westonelementes = 1,0187 Volt, erhält man die elektrometrische Kraft der Gaskette, z. B. 0,4811 Volt. Davon ist das Potential der Kalomelelektrode gegen die gesättigte KCl-Lösung, welches bei Normaltemperatur und bezogen auf die Normal-Wasserstoffelektrode 0,2503 Volt beträgt, abzuziehen, so daß

$$0{,}4811 - 0{,}2503 = 0{,}2308 \text{ Volt}$$

als Potential für die Wasserstoffelektrode verbleibt.

Da nun das Potential der Wasserstoffelektrode bekannt ist, wird es uns möglich, die Wasserstoffionenkonzentration daraus zu ermitteln. Wir bedienen uns dazu folgender aus der Nernstschen Formel abgeleiteten Gleichung:

$$E = \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{C_0}{C}$$

worin E = das ermittelte Potential,
R = die Gaskonstante,
T = die absolute Temperatur,
F = die Anzahl Elektrizitätseinheiten in Coulombs,

welche von 1 mol eines einwertigen Ions mit sich geführt wird.

C bedeutet die Wasserstoffionenkonzentration der zu messenden Lösung, C_0 diejenige der Normalwasserstoffelektrode, auf welche wir unsere Messungen beziehen wollen, d. h. die Elektrode, welche in bezug auf $H^{\cdot}$-Ion einfach normal ist. C_0 wird also = 1.

Wenn wir R, F, T und den Umrechnungsfaktor des natürlichen in den dekadischen Logarithmus in einen Zahlenfaktor zusammenziehen, wobei $T = 273 + 18^0$ angenommen sei, so geht die Gleichung über in

$$E = 0{,}0577 \log \frac{1}{C} \text{ oder } -0{,}0577 \log C$$

daraus berechnen wir unter Benutzung unseres gefundenen Potentials

$$\log C = -\frac{0{,}2308}{0{,}0577} = -4$$

oder durch Delogarithmieren

$$C = 10^{-4} = {}^1/_{10000} \text{ normal.}$$

Der Ausdruck $-\log C$ ist im Bereiche der physiologischen Flüssigkeiten ein bequemes Maß der Wasserstoffionenkonzentration. Es stellt den von Sörensen[1]) vorgeschlagenen Wasserstoffionenexponenten

[1]) A. a. O.

$p_{H^{\cdot}}$ vor. Da er infolge seiner logarithmischen Natur bei größeren Änderungen der $[H^{\cdot}]$ sich nur wenig ändert (z. B. bei doppelter $[H^{\cdot}]$ um 0,3), hat Th. Paul[1]) den Begriff des Säuregrades durch die Größe 1 mg $H^{\cdot}$-Ion im Liter definiert, während Tillmanns[2]) für Wasser die Größe h = 0,0001 mg $H^{\cdot}$-Ion im Liter vorschlug.

Diese Methode der Wasserstoffionenkonzentrationsmessung hat den Vorteil, daß sie rasch auszuführen ist, und daß sich damit auch trübe und dunkle, undurchsichtige Flüssigkeiten messen lassen. Sie ist anwendbar von den sauersten bis zu den alkalischsten Reaktionen und gestaltet sich lediglich in der Nähe des Neutralpunktes, wenn sehr salzarme Lösungen vorliegen, was bei Lebensmitteln höchst selten der Fall ist, schwieriger.

Ein großer Nachteil der Methode liegt jedoch darin, daß bei der außerordentlichen katalytischen Reduktionswirkung des Platins in der Wasserstoffatmosphäre Veränderungen in der Zusammensetzung der Lösung eintreten können, welche eine Messung vereiteln oder zu völlig falschen Resultaten führen können. Das ist z. B. bei Gegenwart von schwefliger Säure oder von organischen Verbindungen desselben, z. B. in Form der aldehydschwefligsauren Salze der Fall. Es tritt in diesem Falle Reduktion zu Schwefelwasserstoff ein. Schwefelwasserstoff vergiftet aber die Platinelektroden, wodurch aber die Messung in Frage gestellt wird. Das gleiche gilt bei Gegenwart freien Ammoniaks.

Gerade die Lebensmittel enthalten oft nun schweflige Säure, z. B. der Wein oder bei alkalischer Reaktion Ammoniak, so daß hier besondere Vorsicht geboten ist. In letzter Zeit haben Bouma und van Dam[3]) eine Reihe von Messungen an Milch ausgeführt und konnten konstatieren, daß ganz frische Milch sich nicht messen ließ; erst nach Verlauf etwa eines Tages war eine Messung möglich. Der Grund dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach in einer solchen sekundären Reduktion eines Milchbestandteiles und Vergiftung der Elektrode zu suchen sein.

Gegenwart von Toluol in tropfbarer Form führt auch zu Störungen der Messung, während gelöstes Toluol ohne Einfluß ist.

Wir kommen deshalb für die Zukunft nicht darüber hinweg, bei so kompliziert zusammengesetzten Systemen, wie sie die Lebensmittel vorstellen, uns zweier voneinander unabhängiger Methoden zur Feststellung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration zu bedienen, z. B. der Zucker-

---

[1]) A. a. O.

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. u. Genußm., Bd. 1909, H. 1.

[3]) Biochem. Zeitschr. 1919, 92, 385.

inversionsmethode und der elektrometrischen Methode, und nach strenger Kritik aller Faktoren dann auf die eine oder andere von Fall zu Fall uns festzulegen.

Zum Schlusse dieser methodischen Betrachtungen sei noch kurz des letzten Verfahrens zur Bestimmung der H˙-Ionenkonzentration gedacht, nämlich der kolorimetrischen Methode[1]. Mit Hilfe geeigneter Indikatoren ist es möglich, allerdings mit bedeutend geringerer Genauigkeit, sich über die Reaktion einer Lösung zu orientieren. Bedingung dabei ist, daß die zu messende Flüssigkeit klar und nicht zu sehr gefärbt erscheint. Die uns bekannten und zur Messung verwendbaren Indikatoren sind Farbstoffe, deren Nuance sich mit der Wasserstoffionenkonzentration ändert. Diese Farbnuanceänderung hat meist ihren Grund darin, daß das undissoziierte Molekül anders gefärbt ist, als die Ionen. Je nachdem dann das undissoziierte Säuremolekül oder die Ionen überwiegen, werden sich verschiedene Farbübergänge bemerkbar machen. Der Umschlagspunkt hängt, da wir die Indikatoren als schwache Säuren aufzufassen haben, für welche die Gesetze der elektrolytischen Dissoziation ebenso gelten wie für die übrigen Säuren, von der Dissoziationskonstante des Indikators und der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung ab, gemäß der Beziehung

$$\frac{[\text{Säure-Anion}]}{[\text{undissoz. Säure}]} = \frac{k}{[H^\cdot]}$$

Mit veränderlicher [H˙] ändert sich das Verhältnis von Säureanion und undissoziierter Säure und, bei verschiedener Farbnuance beider, die jeweilige Mischfarbe. Je nach der Dissoziationskonstante wird der Indikatorumschlag bei verschiedenen H˙-Ionenkonzentrationen für die verschiedenen Indikatoren erfolgen.

Z. B. für Methylorange bei einer [H˙] $= 10^{-3}$—10^{-4}
„ Neutralrot „ „ „ $= 10^{-6,5}$—$10^{-7,5}$
„ Phenolphthalein bei „ „ $= 10^{-8,5}$—10^{-10}

Stellen wir uns nun eine Reihe von Testlösungen her, deren Wasserstoffionenkonzentration wir rechnerisch ermitteln können, z. B. Gemische von Natriumazetat und Essigsäure oder von primärem und sekundärem Phosphat, so können wir durch Vergleich unserer zu messenden Lösung mit einer passend abgestuften Reihe von Testlösungen unter Verwendung eines geeigneten Indikators auf die H˙-Ionenkonzentration der Lösung schließen. Wir müssen bei dieser Methode jedoch darauf acht nehmen, daß die Indikatoren bei Gegenwart von größeren Mengen von Neutral-

[1] Siehe auch Michaelis (a. a. O.) und Sörensen (a. a. O.).

salzen oder besonders von genuinen Eiweißkörpern zu bedeutenden Fehlern Anlaß geben können. Handelt es sich darum, rasch sich über den herrschenden Säuregrad zu orientieren, dann leistet die Methode vortreffliche Dienste, desgleichen bei Lösungen, die Säuregrade in unmittelbarer Nachbarschaft des Neutralpunktes aufweisen, wo die katalytischen Methoden zu unempfindlich werden oder die elektrometrische Methode nicht mehr zuverlässige Werte aus den angegebenen Gründen liefert. So hat sich z. B. die kolorimetrische Methode glänzend bewährt, als Sven Palitzsch[1]) auf einer Seefahrt an Ort und Stelle die H^+-Ionenkonzentration des Meerwassers maß.

Nach diesen allgemeinen theoretischen Erörterungen über die Methodik der Messung des Säuregrades bleibt nun noch übrig, in Kürze auf die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für das Lebensmittelgewerbe hinzuweisen. Diese Bedeutung kann einerseits rein theoretischer und andererseits auch praktischer Natur sein, wobei sich beide so und so oft, wie es uns als höchstes erstrebenswertes Ziel erscheint, wirkungsvoll ergänzen. Da wir uns mit der Nutzbarmachung der physikalisch-chemischen Lehren für die Lebensmittelchemie erst am Anfang befinden, ziehe ich es vor, an Hand einiger Beispiele aus solchen Gebieten, auf denen man schon mit Erfolg in der Richtung tätig war, auf die Bedeutung der H^+-Ionenkonzentration hinzuweisen.

Naturgemäß sind diese bisher bevorzugten Gebiete jene gewesen, bei denen uns schon immer eine ausgeprägte, mehr oder minder saure Reaktion entgegengetreten ist, oder bei welchen besondere Vorgänge, die von der Reaktion des Mediums in hervorragender Weise beeinflußt werden, eine Rolle spielen.

Es ist hier vor allem an die enzymatischen Vorgänge zu denken, welche, wie die zahlreichen Arbeiten der letzten beiden Dezennien in überzeugender Weise dargetan haben, besonders von der Reaktion, d. h. von der Wasserstoffionenkonzentration abhängen. In dieser Beziehung sind nun ganz besonders die Gärungsgewerbe dazu angetan, Beispiele für die Bedeutung der $[H^{\cdot}]$ zu liefern. Einmal treten uns hier die Produkte der Gärung entgegen, welche wie Bier oder Wein und die Obstweine, eine ausgesprochene saure Reaktion aufweisen, ferner spielen bei ihrem Werdegang enzymatische Prozesse eine wichtige Rolle und schließlich ist ihre Entstehung letzten Endes an die Tätigkeit von Mikroorganismen gebunden, deren Lebensfunktionen wiederum empfindlich

[1]) Bioch. Zeitschr. 1911, **37**, 116.

von der Reaktion des Mediums beeinflußt werden, und die andererseits selbst auf die [H˙] des Substrates einen erheblichen Einfluß auszuüben vermögen.

Auf dem Gebiete der Weinchemie sei als besonders lehrreiches Beispiel ein Befund von der Heyde und Boragiolas[1]) angeführt. Diese Forscher fanden bei der Analyse eines Geisenheimer Weines der Ernte 1909 und desselben Weines der Ernte 1910, daß der 1909er bedeutend saurer schmeckte als der 1910er, trotzdem der letztere die höhere Titrationsazidität aufwies. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration ergab, daß der Wein der Ernte 1909 eine größere Menge an Wasserstoffionen enthielt als der der Ernte 1910.

Theodor Paul[2]) gelang es, den Nachweis zu erbringen, daß der saure Geschmack des Weines, von welchem der Verkaufswert bekanntlich stark abhängt, auf den Säuregrad, d. h. die Menge der vorhandenen H˙-Ionen zurückzuführen ist, während der Titrationsazidität in dieser Beziehung eine untergeordnete Bedeutung zukommt. Auch verdanken wir ihm eine Reihe von wertvollen Arbeiten über die Physiologie des Geschmackes, aus denen vielleicht interessieren wird, daß von uns bei den im Wein normalerweise vorliegenden Säuregraden eine Differenz von 0,3 mg H˙-Ionen im Liter geschmacklich noch feststellbar ist. Auch die theoretischen Grundlagen des Gleichgewichtes zwischen der Weinsäure und ihren Alkalisalzen oder dem kohlensauren Kalk wurden von ihm erörtert, da sie für die Entsäuerung des Weines mit Kalk oder Di-Kaliumtartrat ein erhebliches praktisches Interesse besitzen.

Auch auf dem Gebiete der Bierbrauerei wurde bereits mit Erfolg in der neuen Richtung gearbeitet, hatte man doch auch hier schon immer einem geeigneten Säuregrad, wenn auch oft nur rein empirisch, Rechnung getragen. Sind es beim Wein die freien organischen Säuren im Verein mit ihren Alkalisalzen, die den Säuregrad charakterisieren, so treten uns in der Brauerei in dieser Beziehung die Gemische von primären und sekundären Phosphaten vornehmlich als Träger der Reaktion entgegen. Durch Verschiebung der gegenseitigen Mengenverhältnisse erfolgt die Änderung des Säuregrades in günstigem oder ungünstigem Sinne. In günstigem Sinne, wenn die beim Mälzen der Gerste, beim Maischen des Malzes oder bei der Gärung der Würze sich bildenden organischen Säuren das sekundäre Phosphat ins primäre über-

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie 1914, **53**, 249.

[2]) Zeitschr. f. Elektrochemie 1917, H. 5/6, Chem. Zeit. 1915, 801 und Berichte der D. Chem. Ges. 1916, **49**, 2124.

führen, in ungünstigem Sinne, wenn primäres Phosphat durch die Erdalkalien des Wassers in sekundäres Salz umgewandelt wird. Ein bestimmter Säuregrad ist aber erforderlich, daß das Bier in bezug auf Farbe, Haltbarkeit und Vortrefflichkeit des Geschmackes allen Anforderungen entspricht. Dem Brauwasser, das man immer schon für die einzelnen Biertypen mitverantwortlich machte, kommt infolge seiner säuregradbeeinflussenden Eigenschaften tatsächlich eine erhebliche Bedeutung zu. Die Wissenschaft brachte den Beweis, daß die Brauwasserfrage eine Aziditätsfrage ist. Da es fernerhin kaum einen Zweig des Lebensmittelgewerbes gibt, auf dem enzymatische Prozesse eine derartige Rolle spielen wie in der Brauerei, so erhellt aus dem über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Enzymreaktionen Gesagten, daß der Säuregrad auch in dieser Richtung sich äußern muß. Wir wissen, daß die Diastase, um ihre optimale Tätigkeit zu entfalten, an die Gegenwart einer Wasserstoffionenkonzentration von etwa $10^{-5,0}$ gebunden ist. Unterhalb und oberhalb dieser Grenzen vermag sie zwar in verhältnismäßig eng umschriebenem Bereich ihre verzuckernden Eigenschaften zu entfalten, doch wird dabei das Verhältnis von leicht vergärbarem Zucker zu den schwer vergärbaren Dextrinen verändert, was wiederum Änderungen im Vergärungsgrad und damit im Charakter des Bieres zur Folge hat. Auch die Peptasen des Malzes zeichnen sich durch eine ziemlich genau definierte optimale $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration von etwa $10^{-4,3-5}$ aus. Das gleiche gilt auch für die Phosphatasen, jene Enzyme, welche organische Phosphorverbindungen in anorganische phosphorsaure Salze zu spalten vermögen. Ihre optimale Tätigkeit entfalten sie bei einer $[H^{\cdot}]$ von $10^{-5,4}$. Der komplizierte Vorgang der enzymatischen Reaktionen beim Maischprozeß wird also je nach dem herrschenden Säuregrad in mehr oder minder vollkommener Weise zum Ablauf gebracht. Dazu kommt noch, daß auch der Zustand des Substrates, dem wir nach Abderhalden ganz besonders unsere Aufmerksamkeit widmen müssen, durch die $[H^{\cdot}]$ weitgehend beeinflußt wird. Die Quellung und der Dispersitätsgrad der Maischegele wird, wie wir aus einer Reihe von verwandten Arbeiten auf kolloidchemischem Gebiete entnehmen können, vom Säuregrad stark beeinflußt, so daß auch durch Veränderungen des Substrates und damit durch eine veränderte Angreifbarkeit seitens der Enzyme Änderungen im Endprodukt der enzymatischen Arbeit die Folge sind. Auch die weiteren Prozesse, wie das Hopfenkochen oder die Gärung, stehen unter dem Einfluß des Säuregrades.

Beim Hopfenkochen spielt für die Haltbarkeit des Bieres die vollkommene Ausscheidung des koagulierbaren Stickstoffs eine Rolle. Aus den Arbeiten Sörensens u. Michaelis' wissen wir, daß diese von den physikalischen Eigenschaften der Proteine, von ihrem isoelektrischen Punkt abhängt. Bei isoelektrischer Reaktion ist die Koagulation maximal, ist dagegen die Reaktion des umgebenden Mediums davon entfernt, so erfolgt, weil das Eiweiß teilweise zur Ionisation Gelegenheit hat, mehr oder minder unvollkommene Fällung. Auch die Löslichkeit der Hopfenbitterstoffe wird vom Säuregrad empfindlich beeinflußt.

Die Gärung ist endlich mehr als alle anderen Prozesse dazu angetan, dem Biere jenen Säuregrad zu verleihen, den es mit Rücksicht auf Haltbarkeit und Rezenz des Geschmackes aufweisen soll. Die Reaktion der Würze und die Zusammensetzung der Hefenährstoffe in derselben, vor allem die Kohlehydrate und die stickstoffhaltigen Substanzen, haben den größten Einfluß auf den resultierenden Säuregrad des Bieres und die von ihm abhängenden Eigenschaften des letzteren. Da die Stabilität der Bierkolloide ganz besonders von der Gegenwart dispergierender H^+-Ionen abhängt, hat man für Exportbiere, welche ganz besonderen Anforderungen hinsichtlich stabilitätsstörender Einflüsse ausgesetzt sind, mit bestem Erfolg durch künstliche Säuerung der Maischen und Würzen den Säuregrad des Bieres wesentlich gehoben.

Berechnet man aus Säuregrad und Gesamtsäure den mittleren Dissoziationsgrad der im Bier enthaltenen Säuren, so sieht man mit Deutlichkeit, wie die in mechanischer Beziehung haltbarsten Biere durch sehr hohe Säuregrade und sehr hohe Zahlen an dissoziierter Säure charakterisiert sind.

Als letztes Beispiel möchte ich noch kurz die Bedeutung des Säuregrades beim Backprozeß streifen. Ausführliche praktische und wissenschaftliche Arbeiten Jessen-Hansens[1]) am Carlsberglaboratorium haben gezeigt, daß die Summe der Erscheinungen, welche wir unter dem Begriff der Backfähigkeit zusammenfassen, eine maximale Entwicklung aufweisen, wenn die Wasserstoffionenkonzentration der Teiglösung den Betrag von etwa 10^{-5} erreicht. In weiterer Verfolgung und Interpretierung dieses Befundes konnten wir feststellen, daß die genannte $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration wiederum als eine optimale zu bezeichnen ist, wenn wir unser Augenmerk auf die bei der Teigbereitung eine Rolle spielenden enzymatischen Prozesse (Diastase, Peptasen und Phosphatasen)

[1]) Comptes rendus d. Laborat. v. Carlsberg 1911, **10**, 170.

richten. Fernerhin aber erfährt das Gliadin, eines der wichtigsten Kleberproteide, bei dieser [H˙] eine ganz charakteristische, für das Verhalten des Teiges beim Backen und die Eigenschaften des fertigen Gebäckes maßgebende Quellung, die sich durch ein goldenes Mittel zwischen völliger Entquellung einerseits und völliger Dispersion oder Lösung andererseits auszeichnet. Dadurch zeigen die Eigenschaften, die man vom Teig verlangt, nämlich Kohlensäurebindungsvermögen einerseits und die richtige Elastizität andererseits, die günstigste Entwicklung und ein einwandfreies lockeres Gebäck wird dadurch gewährleistet.

An Hand dieser wenigen Beispiele dürfte wohl zur Genüge der Beweis erbracht sein, daß von der Einführung der physikalisch-chemischen Lehren für die Beurteilung der Lebensmittel und für die Erkenntnis der bei ihrer Entstehung oder Verarbeitung maßgebenden Vorgänge viel zu erwarten ist. Dabei konnte bei der Wahl des Themas im wesentlichen nur die Wasserstoffionenkonzentration und ihre Bedeutung erörtert werden, aber außer dieser werden noch viele andere physikalische und physikalisch-chemische Arbeitsmethoden, wie die Leitfähigkeitsmessungen, die Messung der Viskosität und der Oberflächenspannung, ferner besonders die Methoden der Kolloidchemie dazu berufen sein, unsere theoretischen Kenntnisse derart zu fördern, daß als Nutzen daraus die erstrebenswerte völlige Beherrschung der praktischen Verhältnisse die Folge sein kann. Ich schließe meine Ausführungen, indem ich auch für die Lebensmittelchemie die Worte Wilhelm Ostwalds beanspruche, welche er für die chemische Physiologie, die mit der Lebensmittelchemie ja manche Berührungspunkte hat, prägte und die an ihr in glänzender Weise bereits in Erfüllung gingen:

Die chemische Physiologie ist von allen Gebieten der angewandten Chemie vielleicht diejenige, welche die erheblichste und folgenreichste Befruchtung durch die Entwicklung der allgemeinen Chemie erfahren wird. Zum Verständnis der chemischen Vorgänge des Organismus reicht die Kenntnis der Stoffe nicht aus und gehört so wesentlich die Kenntnis der Werdevorgänge, daß in der Tat von der allgemeinen Aufstellung der letzteren, wie sie uns die letzten Jahre gebracht haben, an eine wirklich wissenschaftliche Bearbeitung der chemisch-biologischen Probleme gar nicht gedacht werden kann. Der Physiologe, der die gegenwärtig vorhandene Erkenntnis der allgemeinen Chemie auf sein Gebiet anwendet, wird die Physiologie einen Schritt tun lassen, der an Bedeutung dem durch Liebig getanen nicht nachstehen wird.

Auffallende Ähnlichkeiten in der Form bei Kristallen und Mikroben

von

Arminius Bau, Bremen

Mit 9 Lichtbildaufnahmen von Paul Lindner

Eingegangen 16. September 1919.

Bei meinen Versuchen über die Bestimmung der Oxalsäure nach dem „Kalkessigverfahren"[1]) erhielt ich zuweilen Kristalle des Kalziumoxalats, welche von der Form der gewöhnlichen Kristallbildungen derartig abweichen, daß man schwerlich geneigt war, sie für leblose Gebilde zu halten, sondern sie viel eher als Lebewesen aus der Gruppe der Saccharomyceten und der Stäbchenbakterien angesprochen hätte, wenn nicht durch die Art der Gewinnung die Anwesenheit von Mikroben überhaupt ausgeschlossen wäre. Ich bat daher Herrn Prof. Dr. Paul Lindner, diese Formen im Bilde festzuhalten, und bin ihm für die liebenswürdige Bereitwilligkeit, die mikrophotographischen Aufnahmen nach seiner bewährten Methode zu fertigen, zu großem Danke verpflichtet.

Von den Abbildungen, welche sämtlich in 1000facher Vergrößerung aufgenommen sind, täuschen die Figuren 1 und 2 Zellen der Saccharomyceten und anderer Sproßpilze vor, Nr. 3 gleicht der Aufnahme von dicken Kurzstäbchen, und im Bild 4 können wir an der rechten oberen und an der linken unteren Seite sarcina-(pediokokkus)-ähnliche Formen entdecken, während die hier nur vereinzelt auftretenden Bazillen von 9 μ Länge und 3 μ Breite im Bild 5 gewissermaßen in Reinkultur wiedergegeben sind.

Wie sind diese Formen entstanden? Durch Fällung von oxalsäurehaltigen Flüssigkeiten mit „Kalkessig".

Der „Kalkessig" wird in folgender Weise bereitet: Je 500 ccm a) einer in der Wärme hergestellten, nach dem Abkühlen nötigenfalls filtrierten Lösung von 330 g kristallisiertem Natriumazetat und 300 ccm

[1]) Wochenschrift für Brauerei, 1918, Jahrgang 35, Seite 31 ff.

destilliertem Wasser, und b) einer Auflösung von 25 g kristallisiertem Kalziumchlorid in 50-prozentiger Essigsäure, welche Lösung mit letzterer Säure in einem $^1/_2$ l-Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt war, werden vermischt, 48 Stunden in einen kalten Raum bei einer $+7^0$ möglichst nicht übersteigenden Temperatur, z. B. in den Eisschrank hingestellt und sodann durch ein Filter Schleicher und Schüll Nr. 602 „hart" filtriert. Zur Bestimmung der Oxalsäure in einer vorher blank filtrierten Flüssigkeit wird ein gemessener Anteil der letzteren mit dem fünften Teil seiner Menge Kalkessig versetzt, 38 bis 44 Stunden in einen Kühlraum gestellt und dann weiter untersucht. Über die Einzelheiten des Verfahrens wolle man in der Wochenschrift für Brauereien (l. c.) nachlesen. Die zu prüfenden Lösungen dürfen höchstens 0,2 Prozent Oxalsäure enthalten, besser ist es, nur solche mit einem geringeren Gehalt mittels Kalkessigs zu fällen.

Die Kristalle des Kalziumoxalats, welche in den Abbildungen wiedergegeben sind, waren auf folgende Weise gewonnen:

Abbildung 1. Mit Wasser verdünnter Rhabarbersaft, welcher mit etwas Manganosulfat versetzt war[1]), wurde zum Kochen erhitzt und mit Kalkessig gefällt. Meist sehr große elliptische Gebilde, nicht eiförmig, sondern an beiden Polen gleichmäßig ausgebildet. Die Mehrzahl derselben, aber nicht alle, leuchten im Polarisationsmikroskop bei gekreuztem Nikol. Dann vereinzelt große, flache, quadratische Pyramiden, mit etwas gebogenen Kanten, welche gewöhnlich zu zweien mit ihrer Grundfläche zu Quadratoktaedern zusammengesetzt sind, die sogenannte Briefkuvertform; diese polarisieren nicht.

Abbildung 2. Abkochung von unreifen Stachelbeeren mit schwach durch Salzsäure angesäuertem Wasser, mit Zitronensäure und Borsäure versetzt, kalt gefällt. Der Zusatz von Borsäure erfolgte, um die Abscheidung eventuell vorhandener Weinsäure als Kalziumsalz[2]), derjenige von Zitronensäure, um eine solche von Eisenphosphat zu verhindern. Große elliptische Kristalle, welche lebhaft bei gekreuztem Nikol leuchten, daneben sehr große Briefkuverts.

Gegenüber der ersten Abblldung sind hier die „Hefezellen-Kristalle" etwas weniger groß und erscheinen gedrungener. Bei denjenigen aus

---

[1]) Das aus Rhabarbersaft abgeschiedene oxalsaure Kalzium läßt sich häufig schlecht filtrieren, da es die Neigung zeigt, durchs Filter zu laufen. Durch Zusatz eines Manganosalzes vor der Fällung kann man diesen Übelstand vermeiden. Ich beabsichtige, dieses Verhalten für die quantitative Bestimmung zu prüfen.

[2]) Chemiker-Zeitung 1918, Jahrgang 42, Seite 452.

Rhabarbersaft beträgt das Verhältnis der großen zur kleinen Achse etwa 10 : 6, bei der zweiten Sorte etwa 10 : 7.

Abbildung 3. Abkochung von Rhabarber, ohne Manganosulfat, bei 65° mit Kalkessig gefällt. Schmale und kleine Plättchen oder in der Längsrichtung gestreckte Täfelchen, welche lebhaft bei gekreuztem Nikol aufleuchten.

Genau die gleichen Formen wurden aus einer rein wässerigen Abkochung unreifer Stachelbeeren, welche bei 90° mit Kalkessig gefällt war, erhalten.

Abbildung 4. Aus den verschiedenen Fällungen zusammengemischte Kristallformen. In dieser neben den bisher erwähnten, besonders oben rechts und unten links, sonst auch noch zerstreut auf der Platte Tetraden, etwas unregelmäßige, sarcina-artige Pakete, aus kombinierten würfelähnlichen Kristallen mit stark abgerundeten Kanten gebildet. Diese leuchten im polarisierten Licht meist nicht; in dem Haufwerk der Kristalle sieht man nur zuweilen Lichtpunkte aufblitzen: In der unteren rechten Ecke erblicken wir große dicke Stäbchen, von denen besonders eins durch seine Größe auffällt und lebhaft im polarisierten Licht leuchtet. Derartige Formen zeigt uns die nächste

Abbildung 5. Erhalten wurden diese Kristalle aus dem Kalkessig selbst. Ist die zur Bereitung des letzteren benutzte Essigsäure nämlich unrein, enthält sie Glyoxylsäure, so oxidiert sich diese bei längerem Stehen an der Luft zu Oxalsäure[1]), welche nun natürlich Kalziumoxalat bildet. Die nur langsam erfolgende Oxydation der Glyoxylsäure bedingt ein allmähliches Anwachsen der Kristalle bis zu der beträchtlichen Länge von 20 μ. Diese Formen leuchten prachtvoll bei gekreuztem Nikol, meist sind sie auch so gut ausgebildet, daß sie ohne weiteres als Kristalle erkannt und nicht mit Bazillen verwechselt werden können, wie es das links in der Mitte wie ein Zeppelin liegende Individuum zeigt, bei welchem man deutlich die Säulenform mit aufgesetzten Pyramiden erkennt.

Nicht immer erhalten wir bei der Fällung oxalsaurer Lösungen mittels Kalkessigs mikrobenähnliche Gebilde, sondern in der Mehrzahl der Fälle ist die Kristallnatur des Niederschlages deutlich zu erkennen.

Einen Übergang zwischen beiden Formen sehen wir in

Abbildung 6. Rhabarbersaft, verhältnismäßig wenig mit Wasser verdünnt, kalt gefällt. Würfelähnliche Gebilde mit etwas abgerundeten

---

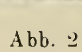
[1]) Wochenschrift f. Brauerei 1919, Jahrgang 36, Seite 293.



Abb. 1



Abb. 2



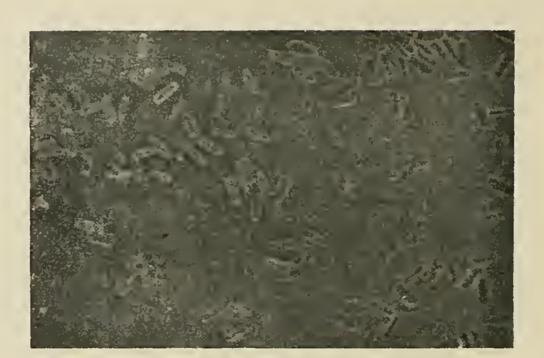


Abb. 3

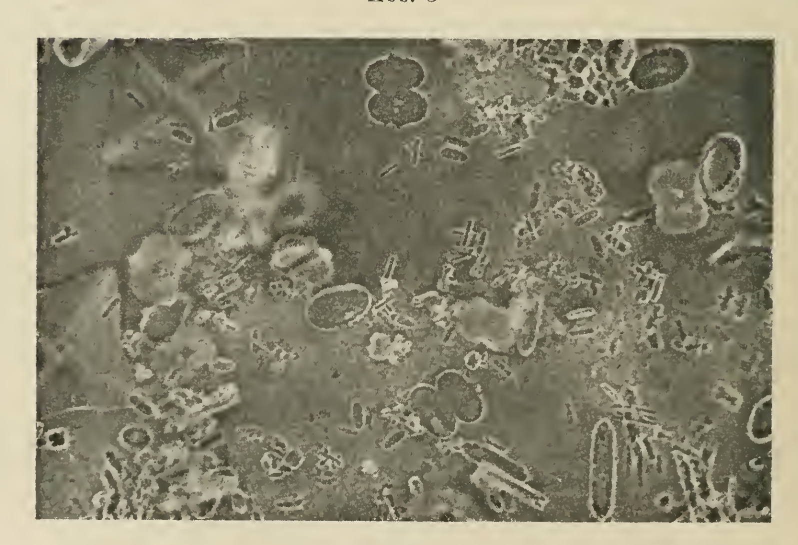


Abb. 4



Abb. 5

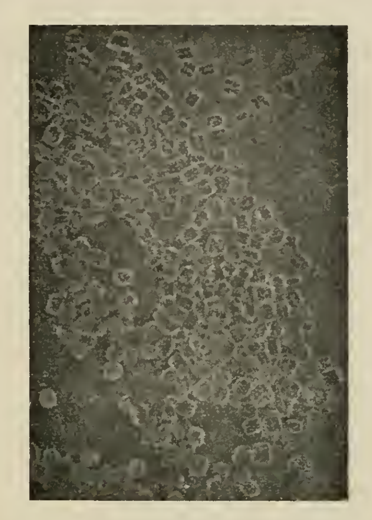


Abb. 6

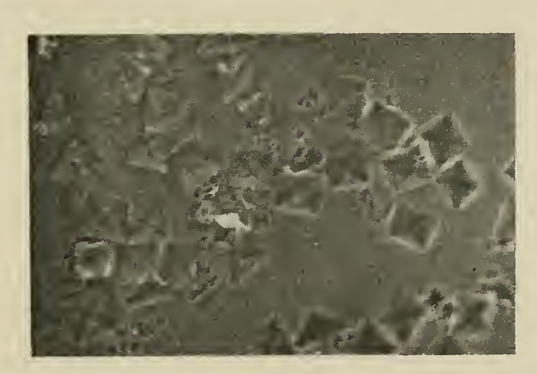


Abb. 7



Abb. 8



Abb. 9

Kanten, welche bei gekreuztem Nikol aufleuchten. Wahrscheinlich sind es kurze Prismen oder hemiedrisch ausgebildete Formen des monoklinen Systems.

Abbildung 7. Abkochung von unreifen Stachelbeeren, ohne Zusatz von Zitronen- und Borsäure, kalt gefällt. Vorwiegend vorhanden ist hier die Briefkuvertform, daneben auch die sarcinaähnlichen Kristalle, welche uns bereits Abb. 4 zeigte.

Abbildung 8. Abkochung von Spinat, mit Zitronen- und Borsäure versetzt, bei 65° gefällt. Sehr große Sterne mit 30 μ Durchmesser des tetragonalen Systems, welche sich von der Briefkuvertform ableiten, nicht polarisierend. Daneben an der unteren Kante des Bildes rechts von der Mitte ein elliptischer Kristall mit stark abgerundeten Ecken, der „Hefezellenform“ ähnlich, aber bei direkter Beobachtung unter dem Mikroskop schon als Kristall erkenntlich; dann paarsemmelartige Zwillingskristalle der eben genannten Form und ein sehr deutlich ausgebildeter Vierlingskristall derselben Sorte, welcher bei weniger starker Vergrößerung einen Pediokokkus vortäuschen könnte. Die drei zuletzt genannten Formen leuchten stark bei gekreuztem Nikol.

Abbildung 9. Das gleiche Objekt wie bei Abbildung 8.

Ein achtstrahliger Stern, aus zwei übereinander gelagerten und zusammengewachsenen vierstrahligen entstanden, nicht leuchtend; dann die Paarsemmelform, leuchtend, und etwas undeutlicher, wie auch in Abb. 8, kleine sarcinaähnliche Gebilde.

Betreffs des Zusammenhangs der einzelnen Kristallgebilde sei zunächst erwähnt, daß das oxalsaure Kalzium in zwei Formen krisallisiert, einmal nach dem tetragonalen System mit 3 Molekülen Wasser als $Ca\,C_2\,O_4 + 3\,H_2O$, dann nach dem monoklinen System mit einem Molekül Wasser als $Ca\,C_2\,O_4 + H_2O$. Die erstere Form entsteht gewöhnlich in der Weise, daß man ein Kalksalz mittels Oxalsäure in der Kälte (bei Zimmertemperatur) fällt, die zweite Form bildet sich bei der Fällung aus heißer Lösung. Auf die einzelnen Gestalten der Kristallisationen hat die Konzentration der Lösung, auch der Umstand, ob das Kalksalz oder die Oxalsäureverbindung im Überschuß ist, einen Einfluß; einen solchen äußern mit Wahrscheinlichkeit auch geringfügige Verunreinigungen, wie sie H. Will[1]) bei seinen schönen Untersuchungen über Kalziumoxalatausscheidungen im Bier (in der Hefe, im Faßgeläger z. B. als Häutchen organischer Natur nachwies, die beim Auflösen der Kristalle zurückbleiben.

[1]) Zeitschrift für das ges. Brauwesen 1913, Jahrg. 36. Seite 254, 255, 256, 272.

Fällt man konzentrierte Oxalsäurelösung mittels Kalksalzen, so entstehen keine kristallinischen Niederschläge, sondern amorphe. Aus Rhabarbersaft, welcher mit der gleichen Menge Wasser verdünnt war, erhielt ich bei der Fällung mit Kalkessig kleine Tröpfchen mit schwacher Brown'scher Molekularbewegung, welche meist nicht polarisierten; bei gekreuztem Nikol traten nur einzelne Lichtpunkte auf. Ich halte diese noch vollständig amorphen Ausscheidungen für die Vorläufer der sarcinaähnlichen Gebilde, wie wir sie in Abb. 4 und 7, auch bei 2 und weniger deutlich bei 8 und 9 finden. Eine weitere Entwicklungsstufe scheinen mir die würfelähnlichen Formen, die kurzen Prismen der Abb. 6 zu sein, welche sämtlich bei gekreuztem Nikol leuchten, während man bei den amorphen Tröpfchen und Pheudosarcinen nur einzelne Lichtpunkte aufblitzen sieht, welche voraussichtlich von bereits besser ausgebildeten Kriställchen ausstrahlen.

Diese kurzen Prismen der Abb. 6 stellen nun nicht etwa ein Bindeglied zu der Briefkuvertform dar, sondern sie weisen auf einen Übergang zu den „Kurzstäbchen" der Abb. 3 hin. Bei genauer Betrachtung sieht man viele der Prismen durch eine Mittellinie geteilt, diese Prismen sind also Zwillinge aus zwei nun nicht mehr würfelähnlichen, sondern mehr in die Länge gestreckten Kristallen.

Sind letztere von vornherein isoliert ausgebildet, so entstehen schmale Täfelchen, sowohl etwas dickere, welche wir rechts auf der Abb. 3 sehen, wie dünnere, auf der linken Seite derselben Abbildung und besonders klar ausgebildet, im oberen Mittelfeld der Abb. 4.

Eine ähnliche Form ist längst bekannt; sie ist gezeichnet bei K. Haushofer, Mikroskopische Reactionen[1]) in Fig. 20, rechts unten, und in Fig. 21, rechte Seite oben; bei L. W. L. Fuchs, Anleitung zum Bestimmen der Mineralien[2]), Fig. 11 rechts unten, bei H. Will[3]), Fig. 47, und endlich bei Hans Kreis u. W. I. Baragiola[4]) in einer photographischen Aufnahme bei ca. 170-facher Vergrößerung.

Abweichend von unserem eigenen Befund ist indessen die Größe. H. Will gibt als Länge der Täfelchen 9 bis 10 μ an, ungefähr die gleiche Größe läßt sich aus der Photographie von Kreis und Baragiola berechnen, während unsere Plättchen im Höchstfalle 4 μ lang sind.

---

[1]) Braunschweig 1885, Seite 35 und 36.

[2]) Gießen, 1898, Seite 86.

[3]) Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen 1913, Jahrgang 36, Seite 253.

[4]) Schweizer Apotheker-Zeitung 1915, Nr. 29, Separatabdruck Seite 3, Fig. 2.

In den Zeichnungen der genannten Autoren erscheinen die Kristalle (mit Ausnahmen von Fuchs) häufig gekreuzt oder mit gegabelten Enden (ausgenommen bei Kreis und Baragiola); letztere bezeichnet H. Will[1]) als Schwalbenschwanzform.

Auch diese Ausbildung sehen wir besonders in unserer Abb. 4, die „Schwalbenschwanzform“ befindet sich an der unteren Kante des Bildes etwas rechts von der Mitte und stellt hier schon einen größeren Kristall von 10 μ dar. Die Schwalbenschwanzform ist zweifellos durch Zusammenwachsen zweier fast parallel gelagerter Individuen entstanden.

Einen allmählichen Übergang von den kleinen Täfelchen von 4 μ Länge zu den in Abb. 5 dargestellten großen Prismen finden wir in unseren Photographien nicht, dies ist auch insofern erklärlich, da die Bildungsweise dieser Prismen eine ganz andere war, als die der durch Fällung gewonnenen Kristalle. Eine ähnliche Form zeichnet H. Will in Fig. 47 und gibt als Länge 9 bis 10 μ, als Breite 3 bis 4 μ an, während unsere Prismen meist viel gestreckter sind und beispielsweise Maße von 11 : 3, 12 : 3, dann 13 : 2,5 und 20 : 3 μ aufweisen.

Eine besondere Form stellt die hefeähnliche Bildung in Abb. 1 und 2 dar. In der Zeichnung bei Haushofer, Fig. 21, rechts von i und unterhalb von b sehen wir Kristalle gezeichnet, welche sich dieser Form nähern, doch unterscheiden sie sich durch die noch ziemlich scharf zugespitzten Pole, ihre Entstehung läßt sich als ein Produkt von Prismen mit aufgesetzten Pyramiden deuten; wachsen zwei derartige Hefenformen zusammen, wie wir den Anfang dieses Vorganges in Abb. 4 an der oberen Kante in der Mitte sehen, so entstehen die in der gleichen Abbildung und in Abb. 8 und 9 erkennbaren Paarsemmeln, die in etwas anderer Gestalt, als Sanduhrform, sich mitunter in den Ausscheidungen des Harns finden.

Mit Ausnahme der amorphen Tröpfchen und der sarcina-ähnlichen Gebilde polarisieren die bisher besprochenen Formen das Licht, sie gehören mit einiger Wahrscheinlichkeit sämtlich dem monoklinen System an. Kristalle dieser Ordnung sollen nur vorwiegend entstehen, wenn Kalziumoxalat aus heißer Lösung gefällt wird. Wir lernten indessen ihre Bildung auch bei kalter Fällung der Oxalsäure durch Kalkessig in den Abb. 2, 4 und 6 kennen, zumal die Abb. 1 und 2, welche die Niederschläge einmal aus heißer, das andere Mal aus kalter Lösung wiedergeben, weisen in der Form der Kristalle nur unwesentliche

[1]) Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen 1910, Jahrgang 33, Seite 132. Fig. 21.

Unterschiede auf, in dem optischen Verhalten stimmen letztere vollkommen überein.

Den Typus der zweiten Form des Kalziumoxalats, welches vorwiegend bei kalter Fällung entsteht und mit drei Molekülen Wasser kristallisiert, stellen die Briefkuvertsformen dar, die jedem Mikroskopiker, der einmal untergärige Bierhefe untersuchte, geläufig sind. Sie gehören, wie schon oben erwähnt, dem tetragonalen System an und stellen nach der Definition von H. Will meist zwei sehr flache Pyramiden dar, welche einer quadratischen Grundfläche beiderseits aufsitzen. Sie sind gegenüber dem polarisierten Lichtstrahl optisch inaktiv.

Eigenartige mit ungeraden und gebogenen Kanten ausgebildete Formen dieser Reihe sehen wir in den Abb. 1, 2, 4, 7, 8 und 9. Werden die Seitenkanten der Grundfläche stark konkav, so entstehen die vierstrahligen (Abb. 4 und 8), und durch Zusammenwachsen zweier Individuen die achtstrahligen Sterne (Abb. 9). Hervorgehoben sei, daß sich auch diese Form nicht ausschließlich durch Fällung der Oxalsäure in kalter Lösung bildet, sondern, daß sie ebenfalls entsteht, wenn man die Fällung in der Wärme vornimmt, wie sich aus den Abb. 1, 8 und 9 ersehen läßt.

Bei der auffälligen Ähnlichkeit einiger dieser Kristalle mit Mikroben ist die Frage berechtigt, wie man diese von jenen unterscheidet, wenn man ihnen zufällig beim Mikroskopieren begegnet. Nun, die Frage ist sehr leicht zu beantworten, auch diese Formen zeigen alle Eigenschaften der gewöhnlichen Oxalatkristalle, sie lösen sich leicht in mäßig verdünnter Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure. Gibt man einen Tropfen der letzteren (konzentrierte Schwefelsäure verdünnt mit 2 oder 4 Gewichtsteilen Wasser) an den Rand des Deckglases und saugt ihn mittels Filtrierpapiers unter das Präparat, so verschwinden die Gebilde und an ihrer Stelle, oder — durch die Strömung bedingt, in ihrer Nähe — entstehen bald einzelne oder ein Bündel von unregelmäßig durcheinander liegenden, häufig sich kreuzenden und an den freiliegenden Enden auseinander sperrenden Kristallnadeln, wie sie H. Will[1]) beschreibt und abbildet. Diese Gipskristalle geben natürlich den Beweis, daß eine Kalkverbindung vorliegt, daß es sich somit nicht um Mikroorganismen handelt. Bei den in unserer Abb. 3 wiedergegebenen Täfelchen muß man allerdings ein Präparat verwenden, bei welchem diese Täfelchen dicht gedrängt liegen, denn sind sie im Gesichtsfeld nur zerstreut vor-

[1]) Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen 1910, Jahrgang 33, Seite 130, Fig. 20.

handen, so verschwinden sie wohl unter der Einwirkung der Schwefelsäure, doch wird man ein Auftreten von Gipskristallen nicht bemerken.

Als weiteres Unterscheidungsmerkmal dieser Oxalatkristalle von Lebewesen kann man nach H. Will[1]) eine 10- oder besser 20-prozentige Kalilauge anwenden, welche die Oxalatkristalle ebenfalls löst. Um die Lösungsvorgänge zu verfolgen, ist nach Will eine mehrstündige Beobachtung nötig, während welcher man zur Vermeidung des Eintrocknens des Präparates von Zeit zu Zeit einen Tropfen frischer Kalilauge an den Rand des Deckglases gibt. Sehr große Kristalle des tetragonalen Systems, welche allerdings hier nicht in Frage kommen, widerstehen der Auflösung indessen hartnäckig, erst nach 20 Stunden schienen nach Will's Beobachtungen alle Kristalle gelöst. Wesentliche Unterschiede in der Löslichkeit der verschiedenen Kristallformen (des tetragonalen und des monoklinen Systems) bestehen nicht, naturgemäß sind die kleinen Kristalle leichter löslich, als die großen.

Als Reaktionsprodukt erscheinen in der Regel nach einiger Zeit dünne sechsseitige Täfelchen (Fig. 49 bei Will) in großer Zahl; vielleicht sind diese als Reaktionsprodukt ein Doppelsatz der Oxalsäure. Als Vorläufer der Täfelchen treten rosettenartig angeordnete Kristallnadeln auf, welche in ihren Umrissen die Form von sechsseitigen Tafeln zeigen.

Diese schon etwas schwierigere Anwendung der Kalilauge ist aber nicht nötig, zur Unterscheidung der mikrobenähnlichen Kristalle von wirklichen Organismen genügt bereits die Anwendung von Mineralsäuren.

Steht ein Polarisationsmikroskop zur Verfügung, so ist die Erkennung in sofern leicht, als wenigstens fast alle größeren Kristalle bei gekreuztem Nikol leuchten.

Erklärung zu den Abbildungen auf S. 206 u. 207

Abbildung 1. Aus mit Wasser verdünntem Rhabarbersaft der mit wenig Manganosulfat versetzt war, mittels Kalkessig heiß gefällte Kalziumoxalatkristalle. 1000 fach.

Abbildung 2. Aus eine Abkochung unreifer Stachelbeeren mit schwach durch Salzsäure angesäuertem Wasserstoff, mit Zitronen- und Borsäure versetzt, mittels Kalkessig kalt gefällt. 1000 fach.

Abbildung 3. Aus einer Abkochung von Rhabarber, ohne Manganosulphat, mittels Kalkessig bei 65° gefällt. 1000 fach.

Abbildung 4. Aus den verschiedenen Fällungen stammende, absichtlich zusammengemischte Kristallformen. 1000 fach.

---

[1]) Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen 1913, Jahrgang 36, Seite 271, 272.

Abbildung 5. Spontane Ausscheidung aus dem Kalkessig selbst, welcher mit unreiner glyoxylsäurehaltiger Essigsäure hergestellt war, in der Kälte entstanden. 1000fach.

Abbildung 6. Aus nur wenig mit Wasser verdünntem Rhabarbersaft, mittels Kalkessig kalt gefällt. 1000fach.

Abbildung 7. Aus einer Abkochung unreifer Stachelbeeren, ohne Zusatz von Zitronen- und Borsäure, mittels Kalkessig kalt gefällt. 1000fach.

Abbildung 8. Aus einer Abkochung von Spinat, mit Zitronen- und Borsäure versetzt, mittels Kalkessig bei 65° gefällt. 1000fach.

Abbildung 9. Aus der gleichen Lösung, wie bei Abb. 8, ein anderes Präparat. 1000 fach.

Kleine Mitteilungen

P. Lindner

Zur Fettgewinnung aus Kleintieren. Der Fettmangel während des Krieges hat dazu geführt, nach neuen noch unbenutzten Fettquellen Ausschau zu halten. Wiederholt habe ich auf den Fettgehalt der Fadenwürmer, Milben, Blatt- und Schildläuse, der Raupen von Schmetterlingen und Motten, der Larven von Getreidekäfern u. dgl. hingewiesen und angeregt, bei massenhaftem Auftreten derselben in der freien Natur sie einzusammeln und auf Fett zu verarbeiten. Die Erfahrungen mit dem Einsammeln von Raupen sind allerdings nicht gerade ermutigend gewesen; es stellt sich bei dem hohen Stundenlohn zu teuer.

In südlicheren Gegenden, die an Heuschreckenplagen leiden, hat man aber das Massenmorden dieser Tiere mit Erfolg betrieben und ist auch nachher zur Fettgewinnung geschritten. Nach einer Mitteilung im „Tropenpflanzer“ (durch Zeitschrift für Abfallverwertung Nr. 15, 1918) hat man in Argentinien die Tiere getrocknet, gemahlen und dann mit Benzin, Erdöl oder Schwefelkohlenstoff und weiter noch mit Alkohol behandelt. 1 t frischer Heuschrecken lieferte 160—180 kg. Fett, das Tier enthält also feucht 16 bis 18 % Fett. Das Fett soll gut nutzbar sein. Von Feldgrauen erfuhr ich, daß man in Kleinasien auch energisch die Heuschrecke bekämpft und ein richtiges Kesseltreiben veranstaltet hat. Weite Strecken waren mit Blechwänden abgesteckt, über die die Tiere nicht hinwegkamen.

Bekannt ist auch das massenhafte Einfangen der Eintagsfliege an unseren großen Flüssen, doch benutzt man die getrockneten Massen wohl nur als Futter oder als Düngemittel.

Vor zwei Jahren habe ich in den Buchenwaldungen am Wandlitz- und Liepnitz-See in der Mark die prächtig gefärbte „Bürstenraupe“ des Buchenspinners oder Rotschwanzes (Dasychira pudibunda L.) eingesammelt und zwar zu verschiedenen Zeiten. Die am 1. 10. 17 eingesammelten waren noch

sehr kräftig und enthielten 29 % Fett in der Trockensubstanz. Am 20. 10. 17 waren die Raupen schon meist verhungert und am Grunde der ganz entblätterten Stämme in Massen angehäuft; sie enthielten jetzt nur noch 5,95 % Fett in der Trockensubstanz. (Nach Analysen von Dr. Stockhausen und Oelbermann.)

Die im Frühjahr massenhaft an Zäunen oder an der Rinde von Linden auftretende Feuerwanze (Pyrrhocoris apterus) enthielt in frischem Zustande 8 % Fett (nach einer Analyse von Ericson am 5. 3. 17) und in der Trockensubstanz gegen 24 %. Der Geruch des gewonnenen Fettes ist unangenehm.

Wesentlich fettreicher sind Mehlmottenlarven; sie enthalten 13 % Fett im Lebendgewicht. 132 Larven wogen 5 g. 1 kg Trockensubstanz enthielt 600 g Fett, also 60 %.

Außerordentlich fettreich sind auch die Larven des Brotbohrers (Anobium paniceum), von denen ich einmal unabsichtlich in Brot, das lange im Schauschrank gelegen und knochentrocken geworden war, hunderte gegessen hatte. Als ich später bemerkte, daß die Poren im Brot zum großen Teil rein weiße Larven enthielten, machte ich eine Kostprobe von isolierten Larven und fand sie wie gutes Schweinefett oder wie Nuß schmeckend.

So verlockend die hohen Fettzahlen bei der Mehlmottenlarve auch sind, so ist doch zu bedenken, daß das Fett aus einem an sich schon wertvollen Rohmaterial stammt, und daß Wochen und Monate darüber hingehen, ehe der Mehlkörper völlig aufgezehrt ist. Bei einer Gerste hatte die Larve derart ihr Unwesen getrieben, daß nur noch leere Schalen übrig blieben und das 1000-Körnergewicht gegen 40 g normal nur noch 7,7 g betrug. Es wäre sehr zu wünschen. daß einmal systematische Versuche über die Schnelligkeit der Aufarbeitung der verschiedenen Getreidesorten durch die Getreideschädlinge angestellt und dabei gleichzeitig die Bilanz gezogen würde, wie viel Fett und Eiweiß die Larven aus dem Mehl zu bilden vermögen. Besonders wichtige Aufschlüsse könnte man diesbezüglich in Hafenstädten sammeln, wo manchmal infolge zu langer Reise ganze Schiffsladungen Getreide völlig zerfressen ankommen. Für genaue Versuche ist allerdings eine Vorzucht von einer genügenden Anzahl solcher Getreideschädlinge unumgänglich notwendig, damit das Getreide in seiner ganzen Masse gleichmäßig mit Eiern oder jungen Larven beimpft werden kann und auf jedes Korn mindestens eine Larve kommt. Bei der Gelegenheit könnte auf die von Kemnitz[1]) bei der Entwicklung zahlreicher Larven gemachte Beobachtung von dem allmählichen Übergang von Eiweiß in Glykogen und weiterhin in Fett besonders geachtet werden.

Für die Entwicklung des Essigälchens trifft sie zu, denn solange lebhafte Vermehrung platzgreift, also Stickstoffverbindungen genügend zur Ver-

---

[1]) Nach „Deutsche Zuckerindustrie“ 1917, Nr. 35.

fügung stehen, ist die Eiweißgeneration vorwiegend, später kommt die Verarbeitung noch überschüssiger Kohlehydrate oder von Abkömmlingen derselben zu Glykogen und schließlich zu Fett, was besonders in abgestorbenen Individuen in großen Fladen anzutreffen ist (vgl. Tafel 162 in Lindner, Atlas der Gärungskunde und Zeitschrift „Die deutsche Essigindustrie" 1913 Nr. 40 Abb. 6 u. 7). Gerade das Essigälchen Anguillula aceti oder die verwandte Art Anguillula Silusiae, die in den Baumflüssen Schleusingens von Ludwig zuerst beobachtet wurde, dürfte für derartige physiologische Versuche sich ausgezeichnet eignen. Man müßte aber zur Aussaat nur junge Älchen, die durch feinmaschige Siebe von den älteren getrennt und dann ausgeschleudert wurden, wählen. Hier würde man ähnlich wie beim Anstellen eines Gärversuches verfahren und das Gewicht bezw. Zahl der Älchen einerseits, Menge und Zusammensetzung der Nährflüssigkeit andererseits festzustellen haben. Die Zählung der lebhaft beweglichen Älchen während des Versuches kann man sehr bequem mit Hilfe der Schattenbildaufnahme bewerkstelligen.

Die Älchen wachsen beim Orleansverfahren in den Bütten so massenhaft, daß dicke Wülste am Rande der Flüssigkeit herausgekratzt werden können; auch in Trubtonnen in Brauereien geht die Älchenvermehrung so schnell vor sich, daß man nach einigen Tagen nur noch eine wimmelnde Masse auf der Truboberfläche wahrnimmt.

Aber auch hier ist das Rohmaterial zu wertvoll, um vorläufig an eine derartige Ausnutzung desselben zu denken.

Die Eingeweide von Fischen suchte Sanitätsrat Dr. Engel zur Züchtung von Fliegenlarven heranzuziehen. Er stellte einen Drahtkorb mit Eingeweiden in einen größeren Behälter in die Sonne und erntete nach wenigen Tagen kiloweise Fliegenlarven am Boden des letzteren. Er machte auch Fettbestimmungen in der zerquetschten und mit Wasser zur Emulsion verrührten Masse in der Weise, wie man in der Milch den Fettgehalt bestimmt. 1 kg Larven enthielten 45 g Fett.

Die Fischeingeweide hat man aber der Trocknungsindustrie ausgeliefert die trockne Futter- oder Düngemittel daraus macht.

Das Verfahren, fettspeichernde Mikroben auf Abfallstoffen zu züchten, um daraus Fett zu gewinnen, war aber schon im Februar 1914 von mir zum Patent angemeldet worden. Der Mangel an Rohstoffen während des Krieges lenkte schließlich die Aufmerksamkeit auf die Ausnutzung von Fäkalien. Im Februar d. J. hielt ich in der Ausschußsitzung der Düngerabteilung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft einen Vortrag über „Eine naturgemäße Aufarbeitung von Fäkalien durch Fliegenlarven", der im Auszug dann in den „Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft" Nr. 15 vom 12. April erschien.

Hier mögen nur einige Zahlen angeführt werden. Nach einer alten Leeuwenhoekschen Berechnung kann die Nachkommenschaft von einem Fliegenweibchen in 3 Monaten auf 746000 steigen. Die Nachkommenschaft von 14 Weibchen liefert nach 4 Monaten schon so viel Larven, daß durch diese in wenigen Tagen der tägliche Anfall der Fäkalien von 70 Millionen Menschen (140000 kg) aufgearbeitet werden kann; die Nachkommenschaft von 365 × 14 = 5110 Weibchen würde den jährlichen Anfall bewältigen und am Ende einer Woche etwa 22995 t Fett und 76650 t Eiweiß in ihren Leibern aufgespeichert haben.

Aus dem jährlichen Anfall von 390 Millionen t Stallmist würden Fliegenlarven mit 666660 t Fett und 2 Millionen t Eiweiß rechnerisch sich ergeben; aus 252 Mill. kg Harn weitere 53000 t Fett und 160000 t Eiweiß. Das sind natürlich vorläufig nur Zahlen, aber sie geben zu überlegen, ob man ein Verfahren, das zwar unappetitlich anmutet, nicht dennoch technisch auswerten sollte, zumal es völlig naturgemäß ist, denn die Fliegenlarven sind eben draußen in der Natur die geborenen Fäkalien- und Leichenvertilger. Linnés Ausspruch: „Die Nachkommen von 3 Schmeißfliegen verzehren ein gefallenes Pferd schneller als ein Löwe“ besteht völlig zu Recht.

In der Zeit der Kohlennot hapert es auch mit der Trocknung der Tierkadaver und der Leichenverbrennung. Die Parsen mit ihren Türmen des Schweigens und mit den Aasgeiern und Fliegen (letztere werden den Hauptanteil der Arbeit übernehmen) arbeiten billiger und vorurteilsfreier als wir, die wir nur an den teuren schönen Sarg denken, aber nicht an die Fäulnis, die nach wenigen Tagen darin sich breit macht und monatelang anhält. Ich kann mir eine naturgemäßere Aufarbeitung einer Leiche denken.

Würde sie im Wald neben großen Ameisenhaufen leicht verscharrt, dann wäre in kurzer Zeit nur noch das sauber abgenagte weiße Skelett vorhanden und Nägel und Haare. Oder man würde sie am bewaldeten Ufer eines Flusses oder stillen Waldsees in einen unten nur vergitterten Sarg auf einen überragenden Rost legen, von dem ein Drahtgazeschacht bis zum Wasser herabreicht, nachdem sie vorher mit einer größeren Menge Fliegeneier, die aus einer Fliegenzuchtanstalt bezogen, bestreut ist. Die Gaze soll den Zutritt von Fliegen hindern. Die aus den Fliegeneiern hervorgegangenen Maden fallen in den Fluß und nähren die Fische; besser jedenfalls als Wasserleichen, die von Bakterien in erster Linie aufgezehrt werden. Natürlich wäre bei am Typhus, Cholera und ähnlichen Infektionskrankheiten Verstorbenen dieses Verfahren nicht zulässig, wegen der Verseuchungsgefahr des Wassers. Es ist bei uns auch nur zur warmen Jahreszeit anwendbar. Wollte man es auch im Winter durchführen, dann wären geheizte Räume nötig.

Im Kriege wird so mancher die Fliegenplage aufs ärgste empfunden haben. Pferdedung, Fäkalien und Leichen: das sind die Entwicklungsherde gewesen. Mancher Held ist in wenigen Tagen wie gefallenes Edelwild in

eine Fliegenlarvenmasse verwandelt worden und nach Wochen war sein Leib in alle Windrichtungen mit den ausgekommenen Fliegen verstreut. Je mehr Fliegen nach der Schlacht oder vor dem Drahtverhau zur Stelle, desto schneller werden die nicht schnell zu bergenden Leichen, besonders im „Niemandsland“ ihren Pesthauch verlieren bezw. erst gar nicht zur richtigen Fäulnis kommen, da die Fliegenlarven mit Vorliebe die Fäulnisbakterien aufzehren. Nun ist es so einfach gesagt: Aufarbeitung von Kadavern oder Abfallstoffen durch Fliegen. Ja aber durch welche Fliegen? Da gibt es doch eine fast unzählbare Menge verschiedener Arten, von denen jede ihre besondere Eigentümlichkeit im Werdegang hat.

Brauer, der Verfasser der umfangreichen Monographie über „Die Zweiflügler des Kaiserlichen Museums zu Wien“ 1883 führt allein gegen 400 Gattungen an. Nun gibt es Gattungen mit 20—30 Arten. Uns interessieren nur die, deren Larven auf Dünger oder Kadavern vorkommen.

Auf Menschenkot gefunden wurden die Larven von Lucilia caesar (Goldfliege), Eristalis tenax (Schlammfliege), Musca domestica (Hausfliege), Sarcophaga, Homalomya canicularis und H. scalaris, Anthomya radicum, A. Friesiana, A. intersecta, Spilogestes abdominalis, Aricia lardaria, Trixa, Themira putris, Th. Leachii, Neuropoda cylindrica, Scatophaga stercoraria.

In menschlichem Harn: Larve von Teichomyza fusca.

Auf Pferdedung: Musca domestica, Hydrotaea dentipes, Graphomya maculata, Sphaerocera subsultans, Hylemia strigosa, Chloria demandata, Myodina vibrans, Stomoxys calcitrans (Stechfliege).

Auf Kuhdung: Coenosia vaccarum. Mesembrina meridiana, M. mystacea, Lonchaea chorea, Hydrotaea armipes, Scatophaga serotina, Cyrtoneura hortorum, Sphaerocera pusilla.

An Baumflüssen: Brachyopa conica, Ceria conopsoides, Xylota lenta, Chrysochlamys ruficornis (an Kastanien, Ahorn, Pappeln), Aricia laeta (Birkensaft), Drosophila pallipes (Ulmen), D. niveopunctata (Ulmen), D. aceti.

Auf Hühnermist: Leria serata. Auf Kaninchenmist: Leria subterranea. Auf Käse und Fleisch: Piophila casei (mit Springlarven), Calliphora vomitoria (Schweißfliege).

Es dürfte nicht allzu bekannt sein, daß man schon gelegentlich eine fortlaufende Züchtung von Fliegen bezw. Fliegenlarven betrieben hat. Ruß gibt in seinem Buche „Einheimische Stubenvögel 1913“ mancherlei Fingerzeige für solche Züchtungen, die eine ständige Versorgung unserer Stubenvögel mit frischer lebender Nahrung bezwecken. Aber nicht nur die Stubenvögel, auch unsere Hühner und Enten schnappen gern nach Fliegen oder picken auf dem Misthaufen deren Larven auf. Wer in Pferdestallungen die Fliegenpest verhindern will, lasse nur fleißig die Hühner in den Stall oder Schwalben.

Ruß macht Angaben über Mehlwurmzucht (eine Mehlwurmzüchterei wird von D. Maschinsky in Biesental bei Berlin betrieben), Züchtung von Speckkäferlarven, von Stubenfliegen, roten Mückenlarven (von Joh. Thumann in Klotzsche bei Dresden gezüchtet) Küchenschaben und Kellerasseln.

Aus Brehms Tierleben entnehme ich die folgenden Angaben:

Schlammfliege (Eristalis tenax) im Frühjahr auf Weidenblüten schmausend, bildet 17 mm lange Larven, die einen 19 mm langen Schwanz haben. Überwinterung jedenfalls auch im Eistadium.

Die graue Fleischfliege legt keine Eier, sondern gebärt Maden, die im Mutterleib schon dem Ei entschlüpfen. Eierstock mit 20000 Eiern, aus denen etwa nur 8000 Larven hervorgehen. Nach 8 Tagen hat die Larve schon ihre volle Größe. Puppenreife nach 4—8 Wochen. Larve entwickelt sich nur auf faulenden Pflanzenstoffen, nicht auf Fleisch.

Der Brummer liebt Dunkelheit und Wärme. Jedes Weibchen legt etwa 200 Eier, vorzugsweise auf Fleisch, alten Käse, Aas und Aaspflanzen. Nach 24 Stunden kriecht die Made aus dem Ei und flieht das Licht. Auf Fischen abgelegte Eier waren nach 2 Tagen ausgekrochen und wogen 25 bis 30 solcher Larven kaum 1 g. Am dritten Tag wog jede einzelne für sich schon 7 g, war also binnen 24 Stunden 200mal schwerer geworden. Die Larve ist in 8—14 Tagen erwachsen und sucht zur Verwandlung die Erde auf. Nach ca. 14 Tagen hat sich im „Tönnchen" die Fliege entwickelt und sprengt es (nur tags). Die im Spätherbst erwachsenen Maden überwintern als Puppen, aus denen an milden Tagen schon sehr zeitig Fliegen werden; u. U. sogar schon Mitte Januar.

Die Einrichtung von Madenzuchtanstalten und Gang der Züchtung. Gang der Züchtung. Im Laboratorium Ausgang von ausgewählten Paaren. Besonderer Brutraum für die daraus hervorgehenden Reinzuchten.

Großes Fliegenzimmer. Die Nachkommen der Reinzuchten aufnehmend. Nach Süd und Südwest Glasvorbauten, damit der Sonnenschein den Tieren zugute kommt und die Wirkung eines verhältnismäßig trockenen und luftigen Raumes. Aufstellen von Kachelöfen oder Heizkörpern, um den Fliegen die zum Begattungsakt nötige Wärme mitzuteilen.

Madenzuchtraum unmittelbar an das Fliegenzimmer anstoßend. Die frisch aufgefüllte Horde oder schräge Wellblechkulisse wird in die Tür zum Fliegenzimmer geschoben, damit Eiablage auf dem Futter erfolgt. Horden und Wellblechkulissen verschiebbar und am Ende der Schienenbahn im rechten Winkel in den Entleerungs-, Reinigungs- und Füllraum zu entfernen. Dort zunächst Ausklopfen der Futterreste und Maden — soweit letztere nicht schon im Madenzuchtraum auf den Boden gefallen und dort regelmäßig zusammengefegt worden sind. Die Abfallreste durch eine Versenkung in den Keller fallend oder nach außen entleert, um auf dem Acker als Dung zu dienen. Trennung des Abfalls von den Maden durch Stabhorden. Nachdem

das Blech leer, wird es abgespült und in wagerechter Lage mit dem neuen Futter beschickt; dann aufgerichtet und in den Madenraum geschoben, dort in der Tür zum Fliegenraum den Fliegen vorgestellt usw.

Temperaturen. 20—25° C. dürften im Madenraum am geeignetsten sein; ebenso im Fliegenraum. Letzterer hat breite, dabei niedrige Klappfenster nach der Glashalle zu, die an der ganzen Südseite des Hauses entlanggeht und im Winter wenigstens in der Mittagszeit geheizt werden sollte, damit sich die Brummer genügend austollen können, um für die Paarung die nötige Innenwärme zu bekommen. Nach dem Abstellen der Heizung werden sie genötigt, wieder den Fliegenraum aufzusuchen und an der eingeschobenen Speisetafel die Eier abzulegen. Nach der Eiablage sind die Fliegen durch Verdunkelungsmanöver und durch Ventilatoren einzufangen und zu vernichten. Fangsiebe.

Licht. Im Fliegenzimmer hell; im Madenraum mehr Zwielicht.

Abwehr der kleinen Schlupfwespen und Schlupffliegen. Aufhängen von Leimstreifen zum Einfangen der Feinde, welche die Maden anbohren und ihre Eier in sie legen.

Ventilation. Verlauf derselben: Von der Glashalle durch den Fliegenraum nach dem Madenraum und Entleerungsraum, weiter durch den Raum, in welchem das Futter in einem halbzylindrischen Trog mit Rührwerk gemischt und gekocht wird zu einem dicken pastenähnlichen (asphaltähnlichen) Brei, von da wird die Luft unter den Rost eines Kessels geleitet, damit nicht die geringste Belästigung der Nachbarschaft stattfindet.

Glashalle. In derselben sind kleinere Bäume direkt in die Erde zu pflanzen, z. B. Linden, Ahornbäume, auf diese sind möglichst viel Blattläuse auszusäen, damit sie den Zucker auf die Blätter spritzen und so den Brummern Ätzung liefern. Auch Lorbeerbäume mit Schildläusen erfüllen den gleichen Zweck.

Fettgewinnung. Durch Zerquetschen der Maden, Auskochen, Abschöpfen des Fettes von der Brühe. Letztere und der Rest der Maden dient wieder als Beigabe zum Futterbrei.

Laboratorium und Reinzuchtraum. Anlehnung an die Verhältnisse, wie sie bereits bei der Seidenraupenzucht bestehen, siehe Bolle, Bedingungen für das Gedeihen der Seidenzucht. Parey, Berlin.

Mikroskop, Mikroskopiertisch. Thermostat (Panumscher für verschiedene Temperaturen von 10—40° C). Trockenschränke, Apparate für Fettbestimmung usw.

Verpuppungsraum 20—25° C. Niedere Sandschicht.

Die vorhergehenden Darlegungen konnten natürlich nur skizzenhaft sein. Die ganze Madenzucht wird je nach Fliegenart und Nahrung sehr unterschiedlich ausfallen. Das eine aber ist wohl sicher: der Zoologe und

Techniker finden hier überaus interessante Aufgaben vor, die volkswirtschaftlich von größter Bedeutung werden dürften.

Über eine eigenartige Herstellung von Hausessig schreibt Herr Rittergutsbesitzer Dr. Wilke-Schinne, Kreis Stendal, folgendes:

Ich besitze seit ca. 30 Jahren ein von uns kurz „Essigpflanze" genanntes Wesen, welches uns den Bedarf an Essig für einen sehr großen Haushalt jahraus jahrein liefert; der Essig ist ganz vorzüglich, jedenfalls besser, als der gekaufte, eignet sich aber nicht zum Einmachen. Es handelt sich um ein Gewächs, das etwa wie eine Qualle aussieht, aber von festerer Struktur ist und sich beliebig teilen läßt. Es lebt in einem Glashafen, der mit Zuckerwasser (1 Pfd. Zucker auf 2 l Wasser) gefüllt ist, und verwandelt diese Lösung in ca. 6 Wochen in den erwähnten Essig. Ich habe eine ganze Anzahl solcher Pflanzen von 10—30 cm Durchmesser, die je nach Größe etwa 3—8 l Essig produzieren und zwar bei Zimmertemperatur; im Winter geht die Umwandlung etwas langsamer vor sich. Die Mutterpflanze wurde vor etwa 35—40 Jahren meinem nun verstorbenen Schwiegervater von einem Zuckerfabrikanten aus Brasilien mitgebracht. Derselbe hatte das Sauerwerden der Melasseabläufe, die sich in großen Lachen in der Nähe seiner Rohrzuckerfabrik gesammelt hatten, beobachtet und dabei die Pflanze entdeckt. Bemerken will ich noch, daß für das Gedeihen der Pflanze die Beschaffenheit des Wassers von einer gewissen Bedeutung zu sein scheint, denn Absenker von meinen Pflanzen, die hier selbst bei schlechter Behandlung ausgezeichnet gedeihen, versagen bei anderen vollständig. Das Zuckerwasser muß übrigens vorher gut gekocht werden. Da ich als Rübenbauer verhältnismäßig reichlich über Zucker verfüge, so habe ich die Essigproduktion auf diesem Wege immer auf der alten Höhe erhalten können.

(Die quallenähnliche Pflanze ist das Bacterium xylinum, die bekannte Bakterie, aus der man neuerdings u. a. auch Kunstleder zu Glacéhandschuhen, Buchdeckel u. dgl. verfertigt.)

Referate

Dem Chemischen Zentralblatt entnommen (z. T. gekürzt).

Referenten: Borinski, Bugge, Düsterbehn, Jung, Mai, Manz, Rammstedt, Rona, Rühle, Schönfeld, Spiegel.

Janke, Alexander. Kriegspreßhefen und deren Verwertung. Zeitschr. f. landw. Vers.-Wesen Österr. **20,** 12—33, Jan.-Febr.

Zur Bewertung der Hefe als Teiglockerungsmittel ist die Backprobe des Verbandes Deutscher Preßhefefabrikanten trotz möglicher Fehlerquellen am besten geeignet. Es dürfte sich empfehlen, als äußerste noch

zulässige Grenze für die nach der deutschen Verbandsmethode ermittelte Gärzeit 120 Minuten zu wählen und allen Erzeugnissen mit Gärzeiten unter 100 Minuten eine Begünstigung einzuräumen. Bei den meisten Preßhefen tritt während des Lagerns eine Verkürzung der Gärzeit ein. Die Bestimmung der Gärzeit soll nicht später als 96 Stunden nach dem Ausstoß aus der Fabrik ausgeführt werden. Die Übereinstimmung zwischen Gärzeit und Flächeninhalt des Brotquerschnittes bei der deutschen Backprobe ist wenig befriedigend. Zur Ermittlung des physiologischen Zustandes der Hefezellen, bezw. zur Feststellung der Haltbarkeit von Preßhefe ist die Färbung mit Methylenblaulösung sehr geeignet. Der $^0/_0$-Gehalt an färbbaren Zellen steht mit den Ergebnissen der Einpreßmethode bei 30^0 in einem gesetzmäßigen Zusammenhang. Die Färbemethode dürfte auch für die Betriebskontrolle geeignet sein. Bezüglich der Haltbarkeit ist zu fordern, daß bei der Einpreßmethode in 48 Stunden kein Erweichen eintritt. Erzeugnissen, bei denen in 96 Stunden noch kein Erweichen eintritt, wäre eine Begünstigung einzuräumen. Der Gehalt an färbbaren Zellen wird bei 7$^0/_0$, bezw. bei 1$^1/_2$$^0/_0$ liegen.

van Hest, J. J. Beiträge zur Kenntnis der Hefe. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 327—28, 13/10., 1917.

Vf. hat gefunden, daß durch starkes Lüften der Würze während der Gärung die Hefezellen kleiner und N-ärmer werden. Verfasser hat diese Untersuchungen inzwischen mit Oberhefe fortgesetzt und dabei die früheren Ergebnisse bestätigen können. Die Anstellung und Ausführung der Versuche wird beschrieben.

Windisch, W. Über die Krankheiten der heutigen Dünnbiere, ihre Ursachen und Verhütung, sowie über die Bedeutung des Brauwesens und dessen Verbesserung für die jetzigen und späteren Bierverhältnisse. Wochenschr. f. Brauerei **35**, 243—45, 21/9., 249—51, 28/9., 255—57, 5/10., 263—65, 12/10., 271—74, 19/10., 1918.

Hefentrübe Dünnbiere sind jetzt im allgemeinen selten, Bakterientrübungen häufiger, meistens veranlaßt durch Fäulnisbakterien (Bacterium termo). Wasser spielt als Bakterienquelle eine große Rolle, da zur Herstellung des Dünnbieres das Bier nach vollendetem Brau- und Gärakt mit großen Mengen Wasser verdünnt wird; Abkochen des Verdünnungswassers, Berkefeldfilter. Chemische Trübungen: Gerbstoff-Eiweißtrübung, Gerbstoff-Eisentrübung. Dünnbiere enthalten mehr Gerbstoff als Normalbiere, da sie stärker gehopft sind. Ein Teil des Hopfengerbstoffs kann durch vorheriges Ausziehen mit kaltem Wasser unschädlich gemacht werden; zu meiden ist streng das Verdünnen des schon vergorenen Bieres mit Hopfenwasser. Eine kräftige Gärung ist das beste Gegenmittel, da hierdurch ein großer Teil der Gerbstoff-Eiweißverbindung ausgeschieden wird. Für den Eisengehalt kommt die kräftige eisenlösende Wirkung der primären Phosphate der Würze in Betracht,

das Eisen geht jedoch als Eisenphosphat in den Trub und wird so ausgeschieden. Das Eisen, das mit der unvergorenen Würze in Berührung kommt, ist deshalb weniger schädlich. Gefährlich ist das Eisen, das mit Bier während oder nach der Gärung in Berührung kommt. Das Verdünnungswasser kann die Eisenquelle sein, zumal wenn es freie aggressive Kohlensäure enthält. Für das Zustandekommen der Eisenkrankheit ist ein günstiger Moment der relativ hohe Gerbstoffgehalt und die Säurearmut der Dünnbiere. Man muß auf gute Säuerung hinarbeiten und außerdem eventuelle Alkalität ausschalten. Den meisten Kalamitäten kann man durch Herstellung von dunklen Dünnbieren an Stelle der hellen aus dem Wege gehen.

Rippel, August. Über den Einfluß des wechselnden Barometerstandes auf den Verlauf der alkoholischen Gärung und biologische Vorgänge überhaupt. Zentralblatt f. Bakter. u. Parasitenk. II. Abt., **47**, 225—29, 19/4., 1917.

Die Kurve der Gewichtsverluste durch Entweichen von CO_2 zeigt namentlich bei langsam verlaufender Gärung deutlichen Zickzackverlauf, bedingt durch den Wechsel des atmosphärischen Druckes, so daß mit steigendem Druck die Kurve sich senkt, mit sinkendem steigt. Dieser natürliche Einfluß des Druckwechsels auf das Entweichen der CO_2 muß sich auch auf den Gärungsverlauf geltend machen, insoweit das Verhalten der Hefe durch den Grad der CO_2-Sättigung beeinflußt wird. Wenn diese Betrachtung auf weitere biologische Vorgänge, bei denen gasförmige Endprodukte (NH_3, H_2S usw.) entstehen, ausgedehnt wird, so muß ein derartiger Einfluß in ähnlicher Weise auch für die Verhältnisse in der freien Natur wirken.

Rubner, Max. Über die Zusammensetzung und Verdaulichkeit der Keime einiger Cerealien. Arch. f. Anat. u. Phys. (Waldeyer-Rubner), Physiol. Abt. 1916, 123—31.

Der Keimling ist ein gut verdauliches Nährmaterial. Die Menge der zu gewinnenden Keimlinge wird man nicht auf höher als 1—1,5 % des Gesamtkornes nach den bisherigen günstigsten Resultaten annehmen dürfen. Trotzdem ist die Entkeimung ein volkswirtschaftlich wichtiger Prozeß, da die Ölgewinnung zu einem neuen wertvollen Produkt aus der Brotfrucht wird, ohne diese im Nährwert zu mindern, und der Keimling ein natürliches Eiweißpulver von leichter Resorbierbarkeit darstellt.

Bokorny, Th. Einiges über die enzymatischen Kräfte der Hefe. Allg. Brauer- u. Hopfenztg., 58, 1093—94, 15/11., 1918.

Es wird über die nachteilige Wirkung selbst geringer Mengen von Desinfektionsmitteln auf die Gärkraft und andere enzymatische Kräfte der Hefe berichtet. 0,2 % Formaldehyd hindert Wachstum und Gärung, die Hefe wird getötet, das Gärungsferment ebenfalls; 0,05 % macht das Gärungsferment

nicht unwirksam; 0,1 % tötet Zymase binnen 2 Tagen; 1 % macht bei zweitägiger Einwirkung Invertase nicht unwirksam, Zuckerlösung wird kräftig invertiert. Demnach ist es möglich, durch Zusatz von Formaldehyd eine Hefe herzustellen, die zwar invertiert, aber Zucker nicht vergärt. 0,5 % Phenylhydrazin verhindert die Gärung von Malzzucker, aber Traubenzucker wird vergoren. Bei 0.02 % Sublimat tritt noch schwache Vergärung ein, bei 0,1 % unterbleibt die Gärung, wohl aber wird Rohrzucker stark invertiert. Ähnlich wirkt Silbernitrat. 10 %iger Alkohol führt binnen 5 Tagen keine dauernde Inaktivität der Zymase herbei, nach 20 Tagen war die Gärkraft nur noch sehr gering. Durch absoluten Alkohol wird die Gärkraft binnen 10 Minuten getötet. — Verfasser äußert sich auch über mutmaßliche Spaltung und Atomverschiebung in Kohlenhydraten beim Ernährungsprozeß.

Svanberg, Olof. Enzymatische Untersuchungen einer Torulahefe. Fermentforschung **2**, 201—10, 5/.11, (15/2.) 1918.

Eingehender quantitativer Untersuchung unterzogen wurde eine ursprünglich von E. Chr. Hansen, vermutlich aus Bier, isolierte, sehr kleine ($2,45 \cdot 10^{11}$ — $2,85 \cdot 10^{11}$ Zellen für 1 g Trockengewicht) Torula bezgl. Vergärungsgeschwindigkeit, Zunahme der Zellenzahl und Inversionsfähigkeit pro Zelle und pro g Trockengewicht. Dabei ergab sich, daß nach geeigneter Vorbehandlung das Gärvermögen, sowie die bei der n. sauren Gärung auftretenden Mengen Alkohol und CO_2 fast denjenigen bei den bekannten Kulturhefen (untergäriger Bierhefe und obergäriger Brennereihefe) gleichen. Phosphatbindung konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Verzár, Fritz. Untersuchungen über den Zusammenhang verschiedener Stoffwechselprozesse bei Bacterium coli commune. Biochem. Zeitschr. **91**, 1—45, 18/10., (6/3.) 1918.

Der Stoffwechsel des Colibacteriums, das O_2 verbraucht, CO_2 und Milchsäure aus Traubenzucker bildet, aus Eiweiß Indol erzeugt und reduzierende Wirkung hat, weist weitgehende Ähnlichkeit mit demjenigen des Muskels auf und wurde deshalb einer eingehenden Erforschung für wert gehalten. Als allgemeine Ergebnisse werden verzeichnet, daß der Ablauf des Stoffwechsels in einer Richtung, z. B. auf Kosten von Kohlenhydraten, durch Vermittlung eines Stoffwechselproduktes den Ablauf des Zellstoffwechsels in anderer Richtung (Bildung von Indol) hemmt; ferner, daß die Anhäufung eines Stoffwechselproduktes, der Säure, ihre eigene Bildung und, da mit dieser auch die Vermehrung und Lebensfähigkeit der Zellen engstens verbunden ist, auch diese hemmt. Wird durch Bildung gewisser Stoffwechselprodukte (Säure) das Milieu geändert, so können neuartige Prozesse (Bildung von Alkali) auftreten. Verschiedene Stoffwechselprozesse konnten durch die Vergiftungsversuche als verhältnismäßig voneinander unabhängig erwiesen werden (Gas-

bildung vom Reduktionsprozeß und von der Säurebildung), während sich für andere (Säurebildung und Lebensfähigkeit) dabei enger Zusammenhang ergab.

Beeinflussung der Indolbildung durch die Säurebildung. Es ist bereits bekannt, daß die Indolbildung durch B. coli nur in von Traubenzucker freiem Nährboden zustande kommt und in einer ursprünglich traubenzuckerhaltigen Bouillon auch dann nicht, wenn nach einigen Tagen aller Zucker vergoren ist. Daraus ist zu folgern, daß nicht der Zucker selbst, sondern ein aus ihm entstehendes Stoffwechselprodukt die Hemmung bedingt, und hierfür hat bereits Smith (Journ. of exper. med. **2**, 543, **3**, 647) die bei der Gärung entstehende Säure verantwortlich gemacht. Es ließ sich zeigen, daß sowohl bei B. coli als auch bei Saccharomyces cerevisiae, dessen Indolbildung diejenige von jenem noch bei weitem übertrifft, diese durch alle Zucker gehemmt wird, aus denen sie Säure bilden, und zwar bei einer Konzentration, bei der die Reaktion der Bouillon deutlich sauer war, während Alkohol und $CH_3 \cdot OH$ in den benutzten Konzentrationen, bis 0,9%, sie überhaupt nicht hemmten. — Milchsäure hemmt die Indolbildung von B. coli unterhalb 0,1%, diejenige von Saccharomyces zwischen 0,1 und 0,2%, und die Hemmung ließ sich auch durch HCl bei ganz schwach saurer Reaktion bewirken. Auf der anderen Seite findet bei Zusatz kleiner Mengen Alkali die Bildung von Indol auch in Traubenzuckerbouillon trotz nachweisbarer Vergärung des Zuckers statt.

Bokorny, Th. Allgemeines über die Assimilationsfähigkeit der Hefe und ihre Vermehrung. Allg. Brauer- u. Hopfenztg. **58**, 1031—32, 28/10., 1035—37, 29/10., 1918.

Es wird besonders auf den Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und Nährfähigkeit der organischen Stoffe verwiesen und ein Überblick über die chemische Konstitution der geprüften organischen Stickstoffverbindungen, sowie einiger N-freier Benzolderivate gegeben; ihre physiologische Verwendung setzt meist eine Spaltung voraus, die der durch Säuren oder Basen bewirkten wahrscheinlich ähnlich ist.

Heise, R. 1. Über die Einwirkung von Ozon auf Mikroorganismen und künstliche Nährsubstrate, als Beitrag zur Kenntnis der Ozonwirkung in Fleischkühlhallen. 2. Die Einwirkung von Ozon auf künstliche Nährböden und auf verschiedene Bakterien, Hefen und Schimmelpilze. Arbb. Kais. Gesundh.-Amt **50**, 418—451, Febr. 1917 (Sept. 1916).

Die Untersuchungen wurden an verschiedenen Arten von Mikroorganismen ausgeführt, wovon 3 Bakterien, 2 Hefen und 2 Schimmelpilze aus Berliner Kühlhäusern stammten; 3 Bakterien waren Laboratoriumskulturen. Eine Ozonkonzentration von ca. 3 mg/cbm bei 3—4-stündiger Einwirkung reicht noch aus, um mehr als 95% von einzeln an der Oberfläche des Nährbodens liegenden Keimen zu vernichten. O_3 dringt nur schwer in den Nähr-

boden und in Bakterienmassen ein; dementsprechend werden Kolonien, selbst wenn sie an der Oberfläche liegen, nur wenig geschädigt. Ihr Entwicklungsstadium ist dabei von Bedeutung. — Die Hefen verhalten sich insofern von den Bakterien abweichend, als sich die einzelnen Keime gegen O_3 viel empfindlicher erweisen. Von Schimmelpilzen werden auf der Oberfläche des Nährbodens liegende, in der Auskeimung begriffene Sporen und freiliegendes Mycel durch O_3 abgetötet. Der im Nährboden liegende Teil des Mycels ist vor dem O_3 geschützt, weshalb im allgemeinen keine völlige Vernichtung, sondern nur eine mehr oder weniger starke Schädigung der Kultur eintritt. Da sich aus dem im Nährsubstrat fortwachsenden Mycel immer von neuem Myceläste und Fruktifikationsorgane erheben, so ist eine ausgiebige Wirkung nur dann vorhanden, wenn die Ozonisierung in bestimmten, von der Entwicklungsgeschwindigkeit der Pilze abhängigen Zeitabschnitten wiederholt wird. — Nach diesen Ergebnissen ist bei der Anwendung von O_3 im Kühlhause eine nur teilweise Vernichtung der dem Fleisch anhaftenden Mikroorganismen zu erwarten. Wie die Erfahrungen in der Praxis zeigen, reicht dieser Anteil jedoch aus, um durch die Ozonisierung eine wesentliche Verlängerung der Haltbarkeit des Fleisches in den Kühlräumen herbeizuführen. Die Ozonisierung der Kühlhäuser einschließlich der Vorkühlhallen wird darum empfohlen.

Magnusson, Hilding. Ein Beitrag zur Kenntnis der schleimigen Zersetzung von Nahrungsmitteln. Zentralblatt f. Bakter. u. Parasitenk. II, **48**, 459—69, 30/9., 1918.

I. Schleimbildung in Wurst. In einer Partie von Wurst von bester Qualität und vorzüglichem Geschmack fand sich zäher, die einzelnen Scheiben fest miteinander verklebender Schleim. Er enthielt eine arme, aber ziemlich bunte Flora, aus der auf verschiedenen Nährböden, auch in Milch keine schleimbildende Art gezüchtet werden konnte. — II. Schleimige Milch. In einem Falle wurde als Erreger der Erscheinung lediglich Streptococcus acidi lactici gefunden, im anderen eine vielleicht aus dem Staube von verschimmeltem Heu in die Milch übertragene Bakterie, die unter den bisher beschriebenen Schleimerregern am meisten dem Bact. lactis viscosum gleicht, aber doch auch diesem gegenüber Verschiedenheiten aufweist. Eine genaue Vergleichung war nicht möglich, weil auch die von Král und Barthel erhaltenen angeblichen Reinkulturen dieses Organismus nicht in allen Punkten mit der Beschreibung von Adametz übereinstimmten.

Dubois, Raphael. Über die Bildung von Glykogen und Zucker auf Kosten der Fette. C. r. soc. de biologie **81**, 689—691, 6/7., 1918.

Auf Grund seiner Untersuchungen über das Murmeltier (seit dem Jahre 1888) kam Verfasser zu dem Ergebnis, daß Zucker sowohl als Glykogen direkt aus den Fetten und indirekt aus den Eiweißkörpern entstehen kann.

Delezenne, C. und Fourneau, E. Über den Anteil, den der Kalk der Hühnereischale an der Bildung des Skeletts des Küchleins während des Brütens nimmt. Ann. Inst. Pasteur **32**, 413—29, Sept. 1918.

Man muß in der Eierschale eine wahre Kalkreserve für den Embryo erblicken. Es muß sich bei der Umbildung der Eisubstanzen während des Brutprozesses eine Substanz in bestimmter Menge bilden oder frei werden, die eine bestimmte Menge Kalk aus der Schale zu lösen vermag.

Washburn und Dahlberg. Der Einfluß des Salzes auf die Veränderungen, welche in Kühlhausbutter auftreten. Journ. of Dairy-Science **1**, Nr. 2; Offic. Org. v. d. Alg. Nederl. Zuivelbd.; Molkerei-Ztg. 28, 243, 12/10, 1918.

Die aus nicht erhitztem Rahm bereitete Butter wurde zu den Versuchen teils in gesalzenem, teils in ungesalzenem Zustande verwendet; sie wurde in hölzerne Fäßchen von je etwa 5 Pfund Inhalt verpackt und bei —26° ein Teil 284 Tage, ein anderer Teil 113 Tage aufbewahrt. Darauf wurden sie noch 20 Tage bei 15° gehalten. Die Proben wurden von Zeit zu Zeit geschmacklich, bakteriologisch und chemisch geprüft. Danach war bei beiderlei Arten Butter in der Kälte kein nennenswerter Unterschied im Rückgang der Buttergüte eingetreten, in der anschließenden warmen Zeit fielen die Ergebnisse zugunsten der ungesalzenen Butter aus. Während des Aufbewahrens in der Kälte war die Zahl der Spaltpilze in allen Proben sehr stark zurückgegangen, in der ungesalzenen Butter jedoch mehr als in der gesalzenen; die Milchsäurespaltpilze hatten die Kälte besser überstanden als alle anderen Spaltpilze. Während der Aufbewahrung bei 15° vermehrten sich die Keime in ungesalzener Butter auf mehr als das Zehnfache und verminderten sich in gesalzener Butter auf weniger als ein Zehntel der ursprünglichen. Vorwiegend, zum Teil ausschließlich, waren nur Milchsäurespaltpilze vorhandenn. Bei Schluß der Versuche war der Säuregrad bei ungesalzener Butter ein wenig höher als bei der gesalzenen.

Bokorny, Th. Verschiedene Beeinflussung der Hefetrockensubstanzvermehrung unter Anwendung von Harn als Stickstoffquelle. Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1918, 893—94, 17/9., 897—98, 18/9., 901—3, 19/9.

Außerordentlich gehoben wird die Vermehrung der Hefetrockensubstanz durch Luftzutritt, durch Aufstellung der Versuchsflüssigkeiten in großen flachen Schalen und häufiges Umrühren oder Umschütteln; so wurde aus doppelt verdünntem, mit K_2HPO_4 neutralisiertem Harn mit Rohr-, bezw. Traubenzucker eine Vermehrung der Trockensubstanz um 2977, bezw. 3746 %, entsprechend einer Ausbeute an neuer Trockensubstanz von 10, bezw. 12,5 % vom Gewichte des angewandten Zuckers erzielt. Demgegenüber ist der Zusatz von Sauerstoffsalzen, $KClO_3$, $KClO_4$. $KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$, sowie von Glyzerin und Methylalkohol ohne Wirkung.

Němec, Anton. Über die Verbreitung der Urease in den Getreidesamen. Biochem. Zeitschr. **91**, 126—30, 18/10. (20/5.) 1918. Prag, K. K. böhm. techn. Hochschule, Inst. f. Pflanzenproduktionslehre. u. Agrikulturchemie.

Es gelang ihr Nachweis in Samen von Weizen, Roggen, Gerste und Hafer, wenn nur die Destillaton des aus Harnstoff gebildeten NH_3 ohne Zusatz von $Ca(OH)_2$ oder MgO erfolgte; im anderen Falle kann aus den Eiweißstoffen so viel NH_3 abgespalten werden, daß die geringe Menge des aus Harnstoff durch die Urease gebildeten nicht mehr deutlich hervortritt.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die Bruch- und Staubform der Hefe — ihre Ursachen. Wochenschr. f. Brauerei **35**, 302—4, 23/11., 1918.

Eine flockende Hefe verliert durch Einwirkung von Säure die Fähigkeit, sich rasch in Wasser abzusetzen, es ist gleichgültig, ob eine freie Säure oder die sauren Salze von Mineralsäuren zur Verwendung kommen. Der Unterschied in der flockenlösenden Wirkung zeigt sich nur in den verbrauchten Mengen der wirksamen Substanz, die um so geringer für die Einheitsmenge der Hefe ist, je stärker die Dissoziation der betreffenden Säure ist. Wird gut absitzende Hefe mit Würze angestellt, so verteilt sie sich sofort staubig. Auch Natronlauge ruft Entflockung hervor. Verfasser isolierten im Filtrate von aus in destilliertem Wasser aufgeschlämmten und mit Säure entflockter Hefe durch Zusatz von Lauge einen Körper mit 38,27 % Eiweißgehalt und 32,37 % Glührückstand, der 6,8 % SiO_2, 9,9 % MgO, 28,7 % CaO und 43,3 % P_2O_5 enthielt; das Verhältnis von CaO zu P_2O_5 ist ziemlich genau 2 : 3, wie in $2\,CaHPO_4$ Anhydrid und Oxyd ebenfalls ziemlich genau 2 : 3 stehen, weshalb Verfasser die Ursache der Flockung in der Bildung von $CaHPO_4$ oder $Ca_3(PO_4)_2$ erblicken. Es kommen nur solche Kalksalze in Betracht, deren Anion einer schwächeren Säure angehört, als es H_2PO_4' ist. So erhielten Verfasser in steigendem Maße Flockung bei Zusatz von milchsaurem Kalk, $Ca(HCO_3)_2$, und ganz besonders bei $Ca(OH)_2$. Eine mit Säure entflockte Hefe bleibt nach der Aufschlämmung in destilliertem Wasser entweder zeitlich unbegrenzt oder nur eine Zeitlang staubig. Danach flockt sie wieder, und man kann ihr aufs neue in geringem Maße mit Säure einen in Alkalien unlöslichen Stoff entziehen. Danach hält sie sich erheblich länger staubig, und bei nochmaliger Behandlung kann man die Staubform länger als 24 Stunden beobachten. Die Hefezelle scheint also den Flockungsstoff zu regenerieren. Da das destillierte Wasser aber keinen Kalk zur Bildung von Phosphat bietet, so schließen Verfasser auf einen Eiweißkörper als Schutz der Zelle gegen zu große Mineralstoffverarmung durch Diosmose.

König, Fr. Die Städtekanalisation im Dienste der Landwirtschaft. Gesundheitsingenieur **41**, 401—7, 26/10., 1918.

Die Aufgabe, den Düngewert der städtischen Abwässer in hohem Maße für die Landwirtschaft zu verwerten, ist bisher noch nicht gelöst. Durch

die bisher üblichen Rieselfeldanlagen wird zwar eine gute Reinigung der Abwässer erzielt, aber diese wird durch schwere Nachteile erkauft. Verfasser schlägt vor, die Stadtjauche nicht mehr mit den Regenwässern gemeinsam abzuleiten, sondern die Städte nach dem Trennsystem zu entwässern und die Jauche nicht mittels Berieselung, sondern durch künstliche Beregnung, und zwar nur zur Zeit des wirklichen Bedürfnisses und in einem diesem Bedürfnis entsprechenden Maße auf die Felder zu bringen.

Schütz, Franz. Die Abwässerfrage von Königsberg i. Pr. im Jahre 1913, ein Beitrag zur Frage der Einwirkung von Sulfitcelluloseabwässern auf städtische Abwässer. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. **87**, 185—242, 24/9, 1918. Königsberg, Kgl. Hyg. Inst. der. Univ.

Es wird die Frage erörtert, durch welche Umstände das Zellstoffwasser eine viel größere Belästigung hervorruft als gewöhnliches Abwasser. Zur Beantwortung der Frage wurde die Zusammensetzung des Königsberger Kanalwassers ohne und mit Beimischung von Celluloseabwässern festgestellt. Aus den Zahlen für den organischen Substanzverbrauch wurden die täglichen Mengen der Celluloseabwässer berechnet. Die Untersuchungen führten im wesentlichen zu folgenden Ergebnissen: Das Einleiten von Abwässern einer Zellstoffabrik in ein städtisches Abwassernetz darf nur dann erfolgen, wenn die freie schweflige Säure so weit neutralisiert wird, daß 1 l Ablauge nicht mehr als 0,2 g Säure enthält, da sonst z. B. bei Rieselungen eine deutliche Schädigung des Pflanzenwachstums eintritt. Diese Forderung hat schon Stutzer aufgestellt. Trotz Einhaltung dieser Forderung wird das städtische Abwasser durch die in den Zellstoffabwässern enthaltenen großen Mengen gelöster organischer Stoffe sehr stark mit leicht zersetzungsfähigem Material angereichert. In Königsberg betrug der organische Substanzgehalt des Mischwassers das 18fache desjenigen ohne beigemengte Zellstoffabwässer. Das Mischwasser fault trotz dieses hohen Gehaltes an organischer Substanz nicht stärker, sondern eher weniger stark als unverändertes Kanalwasser infolge eines Gehaltes der Sulfitablauge an fäulnishemmenden Stoffen. Diese zeigen ihre Wirkung auch noch bei der den praktischen Verhältnissen entsprechenden 13-fachen Verdünnung des Fabrikabwassers durch Kanalwasser. Tritt jedoch eine stärkere Verdünnung der Fabrikablaugen ein, so bleibt der Gehalt an organischer Substanz immer noch so groß, daß er einen sehr günstigen Nährboden für die durch die städtischen Abwässer herbeigeführten Bakterien bildet. Erst bei 3000-facher Verdünnung ist eine Fäulnis nicht mehr zu erwarten.

Joesche, E. Über Milchsäuerung in Rübenmaischen. Zeitschr. f. Spiritusindustrie **41**, 442, 28/11., 1918.

Verfasser kocht die Rüben 1 Stunde lang ohne Druck, läßt diesen aber bei blasendem Lufthahn höchstens bis auf $^1/_3$ Atmosphäre steigen. Bei

reichlicher Milchsäureaussaat gelingt es sehr gut, den erörterten Säuregrad zu erzielen. Das Kochen bei offenem Hahn hat den Zweck, Wasser zu verdunsten.

Die alkoholische Gärung mittels der Mucedineen. Rev. des produits chim. **21**, 26—27, 31/1, 1918.

Es wird das Verfahren Boulards kurz besprochen. Es besteht darin, daß man das durch Wärme unter Druck mit Wasser verflüssigte Rohmaterial nach dem Abkühlen auf 39° mit einer Kultur des Mucor Boulard Nr. 5 versetzt und, nachdem die Verzuckerung nach etwa 12 Stunden kräftig eingesetzt hat, eine Kultur der Hefe Boulard hinzufügt, deren Optimum nahe bei dem des Mucor Boulard liegt. Infolgedessen findet neben der Verzuckerung eine kräftige Vergärung statt; beide Vorgänge sind nach etwa 72 Stunden beendigt, und es kann die Destillation der Maische beginnen. Die Ausbeute beträgt im Mittel 42 Liter Reinalkohol auf 100 kg Getreide.

Krumhaar, H. Die Flockung der Hefe und ihre Beeinflussung. Wochenschrift f. Brauerei **35**, 261—63, 12/10., 1918, Berlin. Betriebslaboratorium der Versuchs- u. Lehranstalt für Brauerei.

Eine Literaturzusammenstellung über die Flockung der Hefe und ihre Beeinflussung durch den Trub, durch Aluminiumhydroxyd, Pepton, Tannin-Gelatinelösung, verschiedene Salze, Borsäure, Carbonatwässer, Sulfatwässer, Alkohol, Bakterienaufschwemmungen, spezifische Sera und durch den Gehalt der Hefen an peptischen Enzymen.

Henneberg, W. Das Verhalten (Absterben, Säurebildung, Gärkraft) der Kulturhefen bei der Ernährung mit Ammoniumsalzen. Zeitschr. f. Spiritusindustrie **41**, 403—04, 24/10, 1918, Berlin, Techn.-wissensch. Lab. Institut f. Gärungsgewerbe.

Bei der Aufspaltung der Ammoniaksalze durch Hefe zum Zwecke des Eiweißabbaues wird die mit Ammoniak verbundene Säure frei. Ist dies Kohlensäure, so tritt keine Giftwirkung ein. Sind es weniger schädliche organische Säuren, und können diese durch Verbrennung oder dergleichen unschädlich gemacht werden, so wirken sie kaum nachteilig. Zitronensäure und oxalsaure Ammoniumsalze wirken besonders auf Bierhefe giftig. Am giftigsten wirken anorganische Ammoniumsalze wegen der entstehenden freien Mineralsäuren; bei Verwendung dieser Salze muß für ausreichende Neutralisation durch Zusatz von Schlämmkreide gesorgt werden, sonst findet schnelles Erkranken und Absterben der Hefenzellen statt.

Hendrick, Ellwood. Alkohol aus Sulfitcelluloseablaugen. Die Anlage der West Virginia Pulp & Paper Co. zu Mechanicville, N. Y. Chem. Metallurg. Engineering **18**, 360—62, 1/4., 1918.

Diese Anlage wurde als erste in den Vereinigten Staaten im Jahre 1913 errichtet und im März 1914 in Betrieb gesetzt. Verfasser bespricht die Art,

Menge und Entstehungsweise des vergärbaren Zuckers in der Ablauge und anschließend daran an Hand von Zeichnungen das Verfahren zur Gewinnung von Alkohol aus den Sulfitzellstoffablaugen, wie es auch an der Anlage der West Virginia Pulp & Paper Co. durchgeführt wird.

Rothenbach, F. Das Befüllen von Schnellessigbildern mit Spänen und die Einsäuerung der Apparate nach neuesten Gesichtspunkten unter Berücksichtigung des augenblicklichen Mangels an Einsäuerungsessig. Dtsch. Essigind. **22,** 235—37, 25/10, 1918.

Als Einsäuerungsessig benutzt man etwa 10proz., möglichst frischen Essig von gesunden Bildnern, sowie er von den Apparaten herunterkommt; auch 11—12proz. eignet sich noch gut, stärkerer als 10proz. und schwächerer dürfen weder durch Wasser verdünnt, noch durch Essigsäure verstärkt werden.

Essig aus Paradiesäpfeln. Dtsch. Essigind. **22,** 237, 25/10, 1918.

Es empfiehlt sich, eine Mischung von Fallobst und anderen Äpfeln den Paradiesäpfeln zuzusetzen. Nach 2—4-tägigem Stehen des Breies wird abgepreßt, auf 1 l Saft 250 g Zucker, auf Flaschen füllen, Gärung bei 25—30^0. Nach 1—6 Wochen ist die Essiggärung beendet; 3—4 Wochen nach vollendeter Essigbildung Filtration durch Mullbeutel.

Wüstenfeld, H. Kriegsersatzstoffe in Essigfabriken. Dtsch. Essigind. **22,** 265—66, 22/11, 1918.

Es wird berichtet über Holzersatz durch Ton, Glas- und Metallrohrersatz durch Holzrohre, imprägnierte Papierrohre, Kautschukersatzmittel, Cellonisolierband, Asbestschieferplatten für Wandverkleidung, Korkersatz, Abrolonhütchen.

Francé, R. H. Die Erschließung neuer Fettquellen. Umschau **22,** 231—33, 11/5, 1918, München, Biolog. Inst.

Verfasser verweist auf das fette Öl, das in Algen, Pilzen, Flechten und in den Silicoflagellaten vorkommt und durch geeignete Verwertung der „marinen Algenwiesen" und der auf festem Lande, namentlich auf Ödländereien vorkommenden fetthaltigen Mikroorganismen nach einem Verfahren des Verfassers gewonnen werden kann. Allein im deutschen Küstengebiete sollen danach etwa 60 Millionen Liter fettes Öl, das sich etwa vierteljährlich ersetzt, gewonnen werden können.

Ruff, Otto, Breslau. **Verfahren zur Herstellung von leimfestem Papier. D. R. P. 309999,** Kl. 55 c vom 8/12, 1917, ausgegeben 21/12, 1918.

Dadurch gekennzeichnet, daß die Papiermasse oder Teile dieser vor der Verarbeitung einem Fäulnis- oder Gärungsprozeß und das daraus bereitete Papier einer besonderen Erhitzung unterworfen wird. — Erst durch ein längeres und stärkeres Erhitzen als es zur Zeit auf der Papiermaschine üblich ist, wird eine wirkliche Leimung ermöglicht. Man läßt z. B. Zellstoff

unter Zugabe von etwas gefaulter Masse bei 30—40° etwa 14 Tage stehen. Das dann daraus hergestellte trockene Papier führt man über einen Trockenzylinder mit etwa 2½ Atm. Druck und rollt es auf einer dicht anliegenden Rolle so, daß die Papierrolle eine Temperatur von 110—120° annimmt. Nach etwa 2 Stunden rollt man die Papierrolle unter gleichzeitiger Befeuchtung um.

Röhmer. Über Konservierung von Nahrungs- und Genußmitteln. Vierteljahrsschr. f. ger. Med. u. öffentl. Sanitätswesen (3) **56,** 167—220, Okt. 1918.

Eine gedrängte Übersicht über die gebräuchlichsten Konservierungsmethoden von Fleisch, Fischen, Milch, Butter, Käse, Eiern (Eigelb und Eiweiß), Obst, Gemüsen, Brot, Gebäck und Mehl.

Wegner, M. Algen als Watteersatz. Apoth.-Ztg. **33,** 415, 28/9, 1918.

Als ein geradezu ideales Fasermaterial bezeichnet Verfasser die Algen der Gattung Conferva (Familie der Ulotrichaceae). Verfasser empfiehlt, die Art Conferva bombycina Ag. in Kultur zu nehmen, wenn auch die Baumwollalge die Baumwolle nicht in allen Eigenschaften ersetzen kann.

Guilliermond, A. Über das Chondriom der Pilze. Zu den neuen Untersuchungen von M. Dangeard. C. r. soc. de biologie **81,** 328—32, (13/4, 1918). (Vgl. C. r. d. l'Acad. des sciences **166,** 958; C. 1918, II, 736.)

Das Chondriom der Pilze, dessen Existenz nachgewiesen wird, ist deutlich unterschieden von dem durch M. Dangeard beschriebenen Vakuolensystem.

Colin, H. und Chaudun, A. Über das Gesetz der Wirkung der Sucrase: Hypothese einer intermediären Bindung. C. r. d. l'Acad. des sciences **167,** 338—41, 26/8, 1918. (Vgl. Verfasser C. r. d. l'Acad. des sciences **167,** 208; C. 1918, II, 1044.)

Die Annahme Browns (Journ. Chem. Soc. London **81,** 373; C. 1902, I, 1065) einer vorübergehenden Verbindung zwischen Sucrase und Saccharose bei der Spaltung dieser durch jene konnte experimentell wahrscheinlich gemacht werden.

Lindner, P. Eine einfache Lösung der Biosfrage. Wochenschr. f. Brauerei **35,** 320, 7/12, 1918, Berlin, Inst. f. Gärungsgewerbe.

Vorläufige Mitteilung. Stark gekörnte, das sind fettreiche Hefezellen sind träge im Wachstum, einerlei ob sie gute oder weniger gute Nahrung erhalten. Den Fettreichtum erlangen sie bei Gegenwart von reichlich Zucker, Alkohol und von Sauerstoff. Sobald der Sauerstoff durch Entwicklung von weniger zur Fettbildung neigenden Organismen, wie Kahmhefen oder Bakterien, vorschnell aufgezehrt wird, unterbleibt die Fettbildung in der Saccharomyceszelle, und die Vermehrung geht weiter. Ähnlich den Sauerstoff vermindernd wirkt die Zugabe von frisch aufgekochten und sauerstoffarmen Nährlösungen, wie z. B. Hefeabkochung. Je nachdem man

die geringe Hefenaussaat in eine frisch sterilisierte oder schon länger gestandene Nährlösung gibt, kann eine Vermehrung der Hefenaussaat einsetzen oder ausbleiben.

Falta, W. Die Amylaceen (Mehlfrüchte) in der Kost der Zuckerkranken. Wien. klin. Wochenschr. **31**, 1199 bis 1203, 7/11, 1918, Wien, aus der III. med. Abtlg. des K. K. Kaiserin Elisabeth-Spitales.

Eine Besprechung der vom Verfasser bei der Bekämpfung der Zuckerkrankheit mit gutem Erfolg angewendeten Amylaceenkur. Diese besteht im wesentlichen in einer fast ausschließlichen Ernährung der Erkrankten mit Amylaceenarten (Hafermehl, Weizenmehl, Reis, Erbsen, Linsen, Bohnen, Mais, Kartoffeln etc.). Vollständig ausgeschlossen ist animalisches Eiweiß, während vegetabilisches Eiweiß in geringen Mengen (4—8 g N entsprechend) gegeben wird. Die gesamte Kalorienzufuhr wird durch Buttermengen von 200—250 g hoch gehalten. Der Wert der Amylaceenkur besteht darin, daß sie bei verhältnismäßig geringer Steigerung der Wärmebildung die Zufuhr und Verwertung größerer Fettmengen durch günstige Beeinflussung der Acidose gestattet. Das vegetabile Eiweiß wird darum gegeben, weil nicht nur der Diabetiker, sondern auch der Nichtdiabetiker die Fähigkeit hat, pflanzliches Eiweiß viel leichter anzusetzen als tierisches Eiweiß.

Chavigny, P. Die Rattenplage in den Schützengräben während des Krieges im Jahre 1914. Ihre Ursachen und Heilmittel. Rev. gén. des Sciences pures et appl. **29**, 388—400, 15/7, 420—30, 30/7, 1918.

Es werden die verschiedenen Mittel zur Vernichtung der Ratten besprochen: Fallen, Rattenfänger, wie Terrier, Katzen usw.; bakteriologische Mittel, wie Anwendung des Mäusebacillus von Loeffler, des Bacillus von Lacer, von Mereshkowsky, Issatschenko, Danysz: chemische Mittel (verschiedene Gifte), sowie auch Auszahlung von Preisen. Die Anwendung von Reinkulturen der angegebenen Bakterien hat sich nicht bewährt, ebenso wie die Verwendung chemischer Mittel, wie verschiedener Pasten (mit P, As, Strychnin u. a.) und Gase (SO_2, CS_2, Formaldehyd, Acetylen u. a.). Der Erfolg ist in keinem Falle völlige Vernichtung gewesen, sondern nur Verminderung der Zahl. — Den Hauptanteil an der Unwirksamkeit der angewendeten Mittel, sieht Verfasser darin, daß die Besatzung der Schützengräben aus Gewohnheit und Unüberlegtheit Abfälle von Nahrungsmitteln in großer Menge in der nächsten Umgebung der Gräben verstreute und dadurch die Ratten bei ihrer starken Vermehrung trotz der durch die Bekämpfung erlittenen Verluste an Zahl zunehmen konnten. Mit dem eintretenden Mangel an Nahrungsmitteln und ihrem damit zusammenhängenden sparsamen Gebrauche ging auch die Rattenplage in deu Schützengräben zurück. Die aus den gemachten Erfahrungen für die Bekämpfung der Rattenplage zu ziehenden Nutzanwendungen werden kurz zusammengefaßt.

de la Espriella, J. R. Neue Verwendungsarten von Futterrüben. Umschau **21,** 172—74, 24/2, 1917.

Verfasser bespricht kurz die Bedeutung der Verarbeitung von Futterrüben auf Alkohol für die gegenwärtige, wie auch für die kommende Friedenszeit und einige andere einschlägige Fragen.

Tomlinson, G. H. Der gegenwärtige Stand der Gewinnung von Äthylalkohol aus Holzabfällen. Chem. Trade Journ. **63,** 103—4, 10/8, 1918.

In den letzten 10 Jahren sind in den Vereinigten Staaten zwei Anlagen errichtet worden, die einen hochgradigen Äthylalkohol aus Holz herstellen Das von ihnen angewandte Verfahren, bei dem Holz unter Druck mit einer verdünnten hydrolysierenden Säure erhitzt wird, gestattet, 25—80 % des wasserfreien Holzes löslich zu machen und hiervon 80 % als gärungsfähigen Zucker zu erhalten. Über die zur Durchführung des Verfahrens erforderliche Apparatur werden nähere Angaben gemacht.

Janke, Alexander. I. Zur Technologie des Äthylalkohols. Österr. Chem.-Ztg. (2) **21,** 191 bis 195, 15/10., 1918, Techn. Hochschule Wien.

Abhandlung über den Wert der Brennerei für die deutsche Landwirtschaft und den Einfluß der Kriegsverhältnissse auf die Alkoholerzeugung. Die Sulfitsprit- und Holzspritgewinnung, sowie die Alkoholerzeugung aus Karbid werden beschrieben und die volkswirtschaftliche Bewertung der drei Verfahren erörtert.

Herstellung von Äthylalkohol aus Holzabfällen. Engineer **126,** 204—5, 6/9, 1918.

Nach einem geschichtlichen Überblick über die Entwicklung der Herstellung von Alkohol aus Holz wird eine Anlage zu Fullerton, U. S., beschrieben. Sie ist auf eine Tageserzeugung von 5000 Gallonen Alkohol eingerichtet. 25—28 % des wasserfreien Holzes werden löslich gemacht und davon 80 % in vergärbaren Zucker übergeführt; dies entspricht etwa 10—11 % Alkohol oder 35 Gallonen 95proz. Alkohol auf die Tonne trockenen Holzes. Nach einer beigegebenen schematischen Skizze wird das Holz als Holzmehl in einem mit säurefesten Steinen ausgelegten kugeligen, drehbaren Gefäße von 12 Fuß Durchmesser mit 0,5—1 % des trockenen Holzes H_2SO_4 bei 120 Pfund Druck und 335° F erhitzt. Die Hydrolyse nimmt einschließlich Füllung und Entleerung des Gefäßes etwa 1 Stunde in Anspruch. Das hydrolysierte Holz wird dann in Diffusionsbatterien ausgelaugt; es enthält mehr Wasser als das ursprüngliche Holzmehl, das oft 50 % enthält, infolge des Zusatzes der verdünnten H_2SO_4 und des Anheizens mit Dampf. Der Rückstand aus den Diffusionsbatterien wird dann auf Pressen auf einen Wassergehalt von etwa 55 % gebracht und wird zum Heizen der Kessel gebraucht. Die Flüssigkeit aus den Diffusionsbatterien (Holzflüssigkeit) enthält H_2SO_4, Zucker und andere organische Verbindungen; sie wird mit

Kalkmilch neutralisiert, nach dem Absetzen des Niederschlages dekantiert und in die Gärgefäße übergeführt, wo sie mit in Holzflüssigkeit gewachsener Hefe versetzt wird. Nach Beendigung der Gärung wird wie üblich destilliert. Der erzeugte Alkohol ist sehr rein: er soll nur Spuren Fuselöl, Ester und Säuren enthalten.

Dennington, R. C. Gewinnung von Äthylalkohol. Chem. Trade Journ. **63,** 145, 24/8 (20/8.), 1918, London, E. 12, Wanstead Park.

Unter Bezugnahme auf die Ausführungen von Tomlinson (vgl. vorst. Ref.) weist Verfasser darauf hin, daß die Sekundärreaktionen vor allem auf die Einwirkung der hydrolysierenden Agenzien auf die lösliche Pentosane zurückzuführen sind, und daß es schwer ist, sie ohne Anwendung überschüssiger Mengen von Schwefeldioxyd zu vermeiden. Der Wert des aus Holz gewonnenen Äthylalkohols wird dadurch vermindert, daß er leicht mit geringen Mengen Methylalkohol verunreinigt ist, so daß er nicht von hochgereinigtem denaturierten Spiritus zu unterscheiden ist und dadurch den Verdacht der Steuerbehörden erregt. Gärungshindernd wirkt hauptsächlich der bei den Reaktionen gebildete Formaldehyd; außerdem wirken der Gärung in geringem Maße andere Nebenprodukte, wie Methylalkohol, Methylacetat, Dimethylacetal und Furfural, entgegen.

Lindner, P. Über Teekwaß und Teekwaßpilze. Dtsch. Essigind. **22,** 273—74, 29/11., 278—80, 6/12., 284—85, 13/12., 1918.

Der Gärungserreger des Teekwaß ist Bacterinm xylinum im Verein mit Hefen. Verfasser hat gemeinsam mit Toni Unger den Pilz auch in Aufgüssen von Teersatz, Teesil, gezüchtet. Für die erste Züchtung wird Zusatz von etwas Alkohol in jedweder Form, Sherry, Portwein, Kognak, Rum empfohlen, damit Bacterium xylinum gleich mit dem Wachstum und der Säuerung einsetzen kann. In der wärmeren Jahreszeit könnten manche Essigfabriken und stillgelegte Brennereien mit Kühlschiffen diese zur Kwaßerzeugung verwenden.

Hilgenfeldt, K. Hefebereitung nach dem Milchsäureverfahren bei der Rübenverarbeitung. Zeitschr. f. Spiritusindustrie **41,** 451, 5/12., 1918.

Verfasser verwandte reichlich Grünmalz und maischte dasselbe mit dem Zuckerrübenfruchtwasser aus dem Vormaischbottich ein, als alles Fruchtwasser aus dem Henze abgeleitet war, bevor mit dem Maischen begonnen wurde. Dem Hefegut muß nach der Verzuckerung reichlich Sauergut zugesetzt werden.

Verein der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland, Berlin. **Verfahren der Preßhefefabrikation unter Verwendung von zuckerfreien oder zuckerarmen Würzen. D. R. P. 310461,** Kl. 6a vom 8/5. 1913, ausgegeben 20/1., 1919.

Dadurch gekennzeichnet, daß die Hefe in zuckerfreien, insbesondere in durch bakterielle Säuerung zuckerfrei gemachten Würzen in der bei der

Luftliefebereitung üblichen Weise zur Vermehrung gebracht wird, wobei der Hefe organische Säuren in freier oder gebundener Form als Kohlenstoffquelle dienen. — Sofern zuckerhaltige Würzen zur Vermehrung kommen, muß der Gehalt an freien oder gebundenen organischen Säuren mindestens ein Zehntel des Extraktgehaltes der Würzen betragen. Bei dieser Arbeitsweise werden die zur Verfügung stehenden Kohlenhydrate in höherem Maße als bisher dem Wachstum der Hefe dienstbar gemacht, und die Bildung von Alkohol so weit herabgesetzt, daß seine Gewinnung nicht mehr in Betracht kommt.

Windisch, W. Über die Trübungen, Verfärbungen und Geruchsverschlechterungen der Dünnbiere. Wochenschr. f. Brauerei **35**, 310—12, 30/11., 216—20, 7/12., 322—25, 14/12., 330—33, 21/12, 335—42, 28/12, 1918.

Den chlorigen Geruch der Dünnbiere führt Verfasser auf salpetrige Säure zurück, die aus stark nitrathaltigen Brauwässern durch Bakterienreduktion entsteht, ferner auf die bei der fauligen Gärung durch Nitrifikation und Denitrifikation aus dem Eiweißstickstoff entstandene salpetrige Säure. Der Karbolgeruch hängt zusammen mit dem bei der fauligen Gärung aus Tyrosin entstandenen p-Kresol. Die hierbei als Zwischenproduktes auftretende p-Oxyphenylessigsäure gibt, wie auch noch andere Eiweißzersetzungsprodukte, mit Eisenoxydsalzen eine schwach violette Färbung, die sich sofort in ein schmutziges Graugrün verwandelt. Das bei der fauligen Gärung entstandene Indol und Skatol gibt mit salpetriger Säure die Indolreaktion, Rotfärbung. Hopfengerbsäure färbt sich mit salpetrigsaurem Kalium grünlichgelb mit einem Stich ins fahle Rot. — Neben den durch Mikroorganismen hervorgerufenen Trübungen kommen als Folge der Organismenentwicklung Trübungen vor, wenn mit ausgesprochenen Karbonatwässern gebraut und verdünnt wurde, nämlich die Gerbstoff-Eiweißtrübungen und die Hopfenharztrübungen. Zur Entfernung der letzteren stellt Verfasser Infusionswürzen her und gibt den Hopfen noch während des Läuterns, jedenfalls vor dem Kochen hinzu. Der für Dünnbier charakteristische, niedrige Säuregehalt ist den Trübungen günstig. Eine genügende Menge Milchsäure erhöht die Dispersität der Gerbsäure und damit ihr Vermögen, mit dem Eiweiß und Eisen zu reagieren; diese Menge Milchsäure erhält man durch Säuerung der Maischen mittels Bakterien. Keinesfalls darf die Acidität des Bieres durch Verwendung karbonatreichen Wassers erniedrigt werden. Die Wirkung der Karbonate muß abgeschwächt werden durch Behandlung des Wassers mit Kalkwasser in der Kälte. Die Karbonate der Hopfengerbsäure, des Hopfenphlobaphens und Hopfenbitterstoffe verursachen nicht nur Trübungen, sondern auch Geschmacksverschlechterungen. — Die Eisenkrankheit ist eine Folge der niedrigen Azidität der Dünnbiere, deswegen empfiehlt Verfasser Entkarbonisierung des Wassers mittels Kalkwasser, wodurch er gleichzeitig eine gute Enteisenung erreicht.

Dienst, Karl, Charlottenburg. **Verfahren zum Lagern von Getreide. D. R. P. 308938,** Kl. 81 e vom 1/6. 1917, ausgegeben 5/11. 1918.

Dadurch gekennzeichnet, daß das Getreide mit seinem natürlichen Feuchtigkeitsgehalt in gekühltem Zustande in gegen die Luft abschließbaren Räumen, z. B. Silozellen, eingelagert wird, die dauernd von außen gekühlt werden. — Auf diese Weise kann eine Trocknung des Getreides während der Kühllagerung nicht eintreten, ferner besteht keine dauernde Atmung, und es ist ein Leben von organischen Lebewesen in dem auf etwa $\pm 2^0$ gekühltem Getreide unmöglich.

Die Räude und ihre Behandlung. Pharm. Post **51,** 755, 4/12., 1918.

Kurze Angaben über das Wesen und die Behandlung der Pferderäude. Als bestes Mittel gegen die genannte Krankheit hat sich das Insektoform des Apothekers Fr. Laznia in Brunn am Geb. bei Wien erwiesen.

Slator, Arthur. Einige Beobachtungen über das Wachstum der Hefe. Biochemical Journ. **12,** 248—58, Oktbr. (8/6.) 1918.

Nach Einimpfen von Hefe in Malzwürze lassen sich folgende Wachstumsphasen beobachten: Die Verweil- oder Ruhephase, die logarithmische Phase unbeschränkten Wachstums, eine Verzögerung im Wachstum durch CO_2 und eine solche durch Mangel an O_2, der schließlich den Prozeß zum Stillstand bringt. — Auf die Bedeutung der Messung der logarithmischen Wachstumskonstanten und der Generationsdauer von Mikroorganismen für Beurteilung des Zusammenhangs zwischen dem Wachstum und der chemischen Leistung wird mit Nachdruck hingewiesen.

Lemmermann, O. und Wiessmann, H. Untersuchungen über die Konservierung der Jauche durch verschiedene Zusatzmittel. Landw. Jahrbb. **52,** 297—341, 6/12., 1918, Berlin.

Der Wert des alljährlich aus dem Stalldünger in die Luft entweichenden Stickstoffs wird für Deutschland auf 500 Millionen Mark und darüber geschätzt. Der Harnstoff und die Hippursäure des Harns werden durch Bakterien und deren Fermente sehr schnell in kohlensaures Ammonium umgewandelt. Die Jauche ist also im wesentlichen eine verdünnte Lösung von kohlensaurem Ammonium, aus der das Ammoniak leicht in die Luft entweicht, wenn sie nicht in verschlossenen Gefäßen, bezw. Gruben aufbewahrt wird. Auf dem Felde entstehen weitere Verluste an N. Die Bestrebungen verschiedener Forscher gehen dahin, den N der Jauche als eine nicht flüchtige Verbindung zu konservieren, ohne daß sein Wert als Pflanzennährstoff verringert wird. Verfasser untersuchten die konservierende Wirkung von Braunkohle, Torf, Schwefelsäure, Natriumbisulfat, Superphosphat, Kainit, Gips und Formalin.

Humose Braunkohle bindet 5,122% Ammoniak, entsprechend 4,218% Ammoniakstickstoff. Die Ammoniak-Braunkohleverbindung ist bei

gewöhnlicher Temperatur sehr beständig. 50—60% lufttrockene Braunkohle mit 80% Trockensubstanz konservierten vollkommen. Düngungsversuche ergaben ein gutes Resultat. Auch Torf bindet NH_3 sehr fest. Die Konservierung ergab, daß die Jauche selbst bei einem Zusatz von 20% nach 62 Tagen noch 62% N verlor. — Schwefelsäure von 66° Bé. bewahrt bei einem Zusatz von 1,5—2% die Jauche vor N-Verlusten. — Natriumbisulfat mit 35,01% H_2SO_4 konservierte bei 7proz. Zusatz. — Bei 10% Superphosphat betrugen die N-Verluste nach 62 Tagen noch 27,48%. — Kainit eignet sich nicht. Gips wirkte trotz geringerer Löslichkeit besser als Kainit. — 0,25% Formalin unterdrückte im frischen Kuhharn die Harnstoffgärung. Gegenüber Jauche zeigte es sich bei einem Zusatz von 6% wirksam; die Verluste der Jauche betrugen nach 62 Tagen nur 1,70% N. — Geringe Mengen Zinkchlorid und Kupfersulfat unterdrückten die Harnstoffgärung; von anderen Salzen, wie Natriumchlorid, Natriumsulfit und Natriumtetrathionat waren selbst Mengen von 10—12,5% wirkungslos. Von großer Wichtigkeit für Konservierungsversuche ist eine genaue Kenntnis der Jauche.

Weinwurm, E. Über Trockenhefe (Nähr- und Futterhefe). Chem.-Ztg. **42**, 617—19, 21/12., 622—23, 25/12., 1918.

Abhandlung über die Herstellung und Verwendung von Nährhefe unter Berücksichtigung sowohl der technischen Verfahren als auch der wissenschaftlichen Forschungen auf diesem Gebiet.

Wohl, Alfred und Scherdel, S., Danzig-Langfuhr. **Verfahren zur Gewinnung von gärkräftiger Preßhefe im Dauerbetrieb. D. R. P. 310580,** Kl. 6a vom 16/1.. 1915, ausgegeben 5/2., 1919.

Dadurch gekennzeichnet, daß die organische stickstoffhaltige Nahrung zu etwa 10—50% des Stickstoffs durch Ammoniakstickstoff ersetzt wird. — Während eine technische Hefegewinnung in mehreren Generationen mit anorganischen Ammoniumsalzen nicht möglich ist, beeinflußt ein teilweiser Ersatz des organischen Stickstoffs durch die billigeren anorganischen Ammoniumsalze, und zwar bis fast zur Hälfte, die Hefeausbeute und die Gärkraft der erzeugten Hefe praktisch so gut wie gar nicht. Die organischen Stickstoffverbindungen und die Ammoniumsalze unterstützen sich gegenseitig. Für die Eigenschaften der Hefe erweist es sich als nützlich, die Ammoniumsalze in zwei oder mehreren Anteilen zuzugeben; es wird dadurch insbesondere eine bessere Abpreßbarkeit erzielt.

Windisch, Karl. Die Bierbereitung im Kriege. (Dünnbiere und Ersatzgetränke. Wochenschr. f. Brauerei **34**, 213—15, 30/6., 224—27, 7/7., 1917. Vortrag auf der Mitgliederversammlung des Württemb. Brauerbundes am 21/5., 1917.

Schilderung der Verfahren zur Dünnbierbereitung.

Vogel. Mittel und Wege zum Wiederaufbau des Brennereigewerbes. Zeitschr. f. Spiritusindustrie **42,** 9, 91., Leipzig.

Ist die Melassebrennerei ein Nährstoffzerstörer? (Vgl. Zeitschr. f. Spiritusindustrie **40,** 255—56, C. 1917, II, 334.

Bei der Verarbeitung von Melasseschlempe auf Guanol treten mit Temperaturerhöhung verbundene Gärungsvorgänge auf, die zu einer ungeheuren Bereicherung des Materials mit Bakterien führen. 1 g Naßguanol enthielt z. B. 7760 Millionen Keime, 1 g Trockenguanol 155 Millionen lebensfähige Keime. Dieser gewaltige Keimgehalt verursacht die besonderen wertvollen Nebenwirkungen des Guanols, die unter Umständen die unvermeidlichen Verluste an Kohlenhydraten ausgleichen können.

Schiemann, C. Über schweflige Säure als Mittel zur Tötung von Läusen und Flöhen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. **87,** 389—409, 17 12. 1918. Berlin, Kgl. Inst. f. Infektionskrankheiten „Robert Koch".

SO_2 tötet in geeigneter Konzentration sowohl Nissen und Läuse wie auch Flöhe und Flohlarven mit Sicherheit. Die Nissen sind etwas, aber nicht erheblich widerstandsfähiger als die Läuse. Von diesen sind wiederum die jungen etwas resistenter als die großen. Die Flohlarven entsprechen in der Widerstandsfähigkeit etwa den Läusen, die Flöhe selbst sind etwas weniger widerstandsfähig. Das aus einer Bombe gewonnene Gas wirkt bei gleicher Konzentration auf Läuse und Nissen beträchtlich besser als das durch Verbrennung von S und CS_2 erzeugte. Die Wirkung auf Bakterien verhält sich dagegen umgekehrt. Kalte Zimmer sollen vor der Behandlung mit SO_2 angeheizt werden. In Schränken oder Kisten, die mit Kleidern fast gefüllt sind, lassen sich durch Einleiten großer Mengen von SO_2 Läuse und Nissen innerhalb 1 Stunde abtöten, wenn durch einmaliges Umkehren des Behälters die Verteilung des Gases erleichtert wird. Die Konzentrationen, die hierzu nötig sind, lassen sich nur durch Einleiten des Gases aus einer Bombe gewinnen. Die Benutzung des SO_2 in komprimiertem Zustande verdient auch sonst vielfach den Vorzug vor der Verbrennung von S, sowie CS_2.

Neuberg, Carl und Reinfurth, Elsa. Natürliche und erzwungene Glycerinbildung bei der alkoholischen Gärung. Biochem. Zeitschr. **92,** 234—66. 11/12. 1918. Berlin-Dahlem, Kaiser Wilhelm-Inst. für exper. Therapie, Chem. Abt.

Neuberg hat schon früher gemeinsam mit Kerb angenommen, daß jedem als stabiles Endprodukt auftretenden Molekül Acetaldehyd ein Molekül Glycerin entsprechen muß. Das von Verfassern kürzlich beschriebene Verfahren willkürlicher Festlegung der Acetaldehydstufe bot Gelegenheit zur Prüfung dieser Annahme. In der Tat ergaben die einschlägigen Versuche, daß, der Theorie entsprechend, bei der Gärung in Gegenwart von Sulfit etwa doppelt soviel Glycerin wie Acetaldehyd entsteht, so zwar, daß analytisch die

Bestimmung des Acetaldehyds an Stelle derjenigen des Glycerins treten kann. Nach der für diesen Gärungsprozeß aufgestellten Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_3 \cdot CHO + CO_2 + C_3H_8O_3$$

können im günstigsten Falle 51,11 % vom Gewichte des Zuckers in Glycerin umgewandelt werden. Verfasser fanden tatsächlich bis zu 35,06 %, also rund 70 % der Theorie.

Mascré, M. Bakterienkrankheiten der Pflanzen. Annals of the Missouri botanical garden **2**, 577, 1915. Bull. Sciences Pharmacol. **25**, 364—71, Nov.-Dez. 1918. École supérieure de pharmacie Paris.

Nach Pflanzenfamilien geordnete Zusammenstellung der bekannten durch Bakterien hervorgerufenen Erscheinungen.

Schönfeld, F. und Krumhaar, H. Die Bruch- und Staubform der Hefe — ihre Ursachen. Wochenschr. f. Brauerei **35**, 342—43, 28/12. 1918.

Eine der Ursachen für die Flockung der Hefe haben Verfasser in der Bildung von unlöslichen Calciumphosphaten gefunden. Verfasser deuten die Resultate ihrer weiteren Versuche so, daß sich das in der Würze in mehr oder minder disperser Form enthaltene Eiweiß zusammen mit dem durch Säurewirkung unlöslich gemachten auf der Hefe niederschlägt. Die Säure hat aber in der Zelle die Peptase aktiviert, so daß diese den sich bildenden Eiweißüberzug gleich wieder verdaut und ihn somit in seiner bruchbildenden Wirkung aufhebt. Die Hefe bleibt also in Suspension und arbeitet so lange, als sie noch irgend etwas vorfindet. So läßt sich zwar die geringere Neigung der obergärigen Hefen zur Bruchbildung gegenüber der untergärigen deuten, jedoch ist auch möglich, daß nämlich von vornherein die Naturanlage zur Erzeugung der schleimigen Eiweißhülle eine verschiedene ist, daß sie stark ausgeprägt ist bei der untergärigen, schwach bei der obergärigen Hefe.

Bokorny, Th. Nochmals Versuche über Hefenvermehrung. Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1918, 1183—84, 12/12., 1191—92, 14/12.

Es wird über eine Anzahl neuer Versuche berichtet. Sie sollen zunächst die Frage beantworten, bei welchen Zuckerverdünnungen man überhaupt noch brauchbare Hefe erhält. Die Anschauung, daß sich Hefe bei größerer Verdünnung überhaupt nicht vermehre, ist natürlich falsch. Vermehrung tritt noch bei 0,1—1 % ein und würde an sich befriedigend sein, wenn nicht durch diese starken Verdünnungen die Bakterien begünstigt würden und die Hefe verdrängten. Schon 3 % eines gärfähigen Zuckers genügen, um der Hefe das Übergewicht zu verschaffen. Die Verwertung des Zuckers zum Aufbau von Hefesubstanz ist am günstigsten bei 6 %. Geringere Konzentrationen sind weniger ungünstig als höhere. Dies gilt zunächst für Temperaturen von 20—25°. Niedrigere Temperatur scheint Fäulnis- und Essigbakterien schärfer zu beeinflussen als Hefe. Malzabsud liefert bessere Ernten als Harn mit Zuckerzusatz.

Das Verfahren von Miles zur Säurebehandlung der Kloakenwässer. Chem. Metallurg. Engineering **18**, 591—94, 1/6. 1918.

Es wird auf Grund von Mitteilungen des Erfinders unter Besichtigung einer 10000 Gallonenversuchsanlage zu New Haven, Conn., näheres über das Verfahren mitgeteilt. Die Abwässer werden mit gasförmigem SO_2 in einem Absorptionsturm behandelt, wonach sich 98% der Schwebestoffe in 24 Stunden absetzen. Nach Versuchen von Robert Spurr Weston in Boston soll man für eine Million Gallonen Wasser etwa 1 t SO_2 verbrauchen. Auch technisches Bisulfat kann für diesen Zweck verwendet werden, doch ist gleichzeitig auch ein Zusatz von etwas SO_2 zwecks Verhinderung der Fermentation notwendig. Für 1 Million Gallonen Abwasser sollen 3,82 t Bisulfat und 200 Pfund SO_2 erforderlich sein. Man erhält dabei 1909 Pfund getrockneten Schlamm, enthaltend 430 Pfund Fett. Über die Trocknung, die weitere Behandlung und Verwertung des Schlammes, über die Betriebskosten und den Vergleich des Verfahrens mit 4 anderen Methoden werden nähere Mitteilungen gemacht.

Bokorny, Th. Notizen über Harnstoff und einige andere N-Quellen der grünen Pflanzen. Pflügers Arch. d. Physiol. **172**, 466—96, 30/11. 1918.

Der Harnstoff ist zugleich C- und N-Nahrung für grüne Pflanzen. Die Hippursäure ist keine so gute Nahrung, denn bei der Spaltung der Hippursäure in der Pflanzenzelle wird Benzoesäure frei, die nicht bloß unverwendet bleibt, sondern sogar schädlich wirkt. Der Menschenharn ist also besser, als der tierische Harn, weil ersterer fast allen N als Harnstoff enthält. Der leichten Zersetzlichkeit des Harns, wobei der Harnstoff in kohlensaures Ammonium übergeht und leicht verflüchtigt, kann man durch Zusatz von Konservierungsmitteln, wie ½—1% H_2SO_4 entgegenarbeiten, oder auch durch Eintrocknen des Harns. Die Einleitung des Harns großer Städte in den Vorfluter ist eine unverantwortliche Verschwendung. 1 Gewichtsteil Harnstoff ist physiologisch gleich 3 Gewichtsteilen Salpeter. — Der menschliche und tierische Harn enthält außer dem Harnstoff noch andere nährende organische Stoffe. — Der Harnstoff gibt bei der Spaltung CO_2 (neben NH_3); darum können ihn hauptsächlich grüne Pflanzen zur C-Ernährung gebrauchen. Verfasser scheint es, daß diese C-Ernährung noch besser gelingt, als die mit fertiger CO_2. Es ist auffallend, wie gut die Pflanzen in entsprechend verdünnten Harnstofflösungen gedeihen.

Truffaut, G. Über teilweise Sterilisierung des Bodens. C. r. d. l'Acad. des sciences **167**, 433—36, 16/9. 1918.

Die günstigen Ergebnisse von Miège (C. r. d. l'Acad. des sciences **164**, 362; C. 1917, II, 128) konnten durch Versuche in großem Maßstabe beim Anbau von Gemüsen bestätigt werden. Benutzt wurden CS_2, Kalciumsulfid (durch Reduktion von Gips gewonnen, Zn enthaltendes wirkt weniger gut),

Naphthalin, Anthracen, Schweröle, Toluol, Benzol. Sehr vorteilhaft ist eine Mischung von Schwefelkalcium mit den KW-stoffen, die es einhüllen und seine Zersetzung, damit auch die Entwicklung von H_2S, verlangsamen.

Pantanelli, E. Erfahrungen und Beobachtungen über die hauptsächlichsten Methoden zur Bekämpfung der Heuschrecken. Staz. sperim. agrar. ital. **51,** 245—305 (April 1918.) Rom, Landwirtschaftsdepartement.

Zur systematischen Bekämpfung der Heuschrecken wird für den kultivierbaren Ackerboden Umpflügen und Besäung mit Wintergetreide anempfohlen, wobei die Eier vernichtet werden. Für den noch nicht kultivierbaren Boden ist Belegen mit Arsenik vergifteter Kleie, welche die Heuschrecken tötet, am vorteilhaftesten. Durch Infektion mit Coccobacillus acridiorum wird die Sterblichkeit der Heuschrecken nur unbedeutend vermehrt. Das Sammeln der Eier ist zu umständlich, ebenso das Einfangen der Heuschrecken. Bespritzen mit Emulsionen von Teeröl (Kresosol) vernichtet die Heuschrecken, ist aber kostspielig und schädigt die Weide. Als vorteilhaft erwies sich auch Rohphenol (Karbolgehalt 80%). Erfolgreich ist auch Bespritzen mit verdünnter 0,5—1 proz. Natriumarsenitlösung, welche fast sämtliche Heuschrecken tötet, die Weide aber bis zum nächsten Regen unbenutzbar macht.

Burkhardt, Franz. Untersuchungen über die Bekämpfung des Kornkäfers (Calandra granaria L.) mittels Cyanwasserstoff. Zentralblatt f. Bakter. u. Parasitenk. II. Abt. **49,** 77—91, 22/1., Berlin, Kgl. Landwirtschaftl. Hochschule, Zoolog. Inst.

Der Kornkäfer ist gegen HCN recht widerstandsfähig. Da die weitaus größte Menge der Kornkäfer sich in größerer oder geringerer Tiefe im Getreidehaufen aufhält, vielleicht sogar in den ausgehöhlten Körnern selbst, so steht einem befriedigenden Erfolg die geringe Fähigkeit des HCN, lagernde Getreidemassen zu durchdringen, entgegen.

Oppenheimer, C. Grundriß der Organischen Chemie. 10., neubearbeitete Auflage, Leipzig 1918. 8. VIII u. 183 S. Pappband. Mark 4

Desselben Verfassers Grundriß der Anorgan. Chemie. 9. Auflage, 1918. 277 S. Pappband. Mark 4,80.

Ostwald, W. Der Farbenatlas. Etwa 2500 Farben auf über 100 Tafeln (zerschnitten in je 25 Blätter zu 4 × 5,6 cm). Mit Gebrauchsanweisung und wissenschaftlicher Beschreibuug. (26 Lieferungen.) Leipzig 1918 bis 1919. — Liefg. 15—24: 40 farbige Tafeln mit Text in-8. in Pappkasten. Jede Liefg. Mark 10.

Mezzadroli, Giuseppe. Eine mannosevergärende Hefe. Staz. sperim. agrar. ital. **51,** 306—11, 1918.

Die Flüssigkeiten, welche bei der Verzuckerung des sog. vegetabilischen Elfenbeins erhalten werden, bieten einer industriellen alkoholischen Vergärung

gewisse Schwierigkeiten. In Versuchen mit Saccharomycetes apiculatus, mit Dortmunder Unterhefe, Brüsseler, Berliner und Kiewer Hefen und einer Hefe aus Apulien erwies sich namentlich die letztere zur Vergärung der mannosehaltigen Flüssigkeit befähigt. Neben Zucker ist als Nährmaterial nur wenig Ammoniumphosphat erforderlich. Rüben-, Korn-, Zuckerrohr-, Feigen- und Johannisbrotsaft werden ebenfalls vergoren. Bei der Vergärung dieser Zuckersäfte hinterbleiben im Gegensatz zur Gärung durch andere Hefenarten keine unvergorenen Zucker.

Laskowsky. Über Spiritus aus Holz. Chem.-Ztg. **43**, 51, 29/1.

Der Verfasser berichtet über die Anlage einer englischen Sägemehlbrennerei, in welcher nach dem Classenschen Verfahren gearbeitet wurde. Das inzwischen wesentlich verbesserte Verfahren verspricht eine gute Ausbeute.

Reinke, Otto. Lösliche Stärke zum Wäschestärken. Chem.-Ztg. **42**, 422, 31/8. 1918.

Kartoffelstärke läßt sich als Ersatz für Reisstärke für die kalte Stärkung von Kragen usw. verwenden, wenn man lösliche Kartoffelstärke benutzt.

Verwertung inländischer Produkte G. m. b. H., Charlottenburg, **Verfahren zur Gewinnung von Alkohol und Futtermitteln. D. R. P. 311217,** Kl. 6b vom 13/12. 1916, ausgegeben 1/3. 1919.

Dadurch gekennzeichnet, daß als Ausgangsmaterial die Wurzeln des Schilfrohres (Arundo phragmites) benutzt werden. — 2. Futtermittel, bestehend aus der Schlempe, welche nach dem Abdestillieren der Schilfwurzelmaische zurückbleibt. — Man gewinnt aus 100 kg Wurzeln 10,7 bis 11,5 l Alkohol.

Schweizer, Charles. Leichte Biere. Technik u. Ind. 1918, 305—6, 2/8. 1918, Winterthur.

Die Herstellung von Bier aus dünnen Würzen wird erörtert unter Berücksichtigung der Verwendung von Reis, Mais usw.

Bokorny, Th. Formaldehyd und Fermente. Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1919, 177—78, 22/2., 187—88, 25/2.

Formaldehyd wird durch Fermente gebunden. Ein Kahlbaumsches Präparat von Emulsin band über 11% seines Trockengewichtes, etwa doppelt so viel wie Blutalbumin. Mit Trypsin wurden keine sicheren Ergebnisse erhalten. — Im übrigen werden die Reizwirkungen des Formaldehyds auf Fermente auf Grund der Untersuchungen von Neuberg besprochen.

Uzel, H. Rotfäule der Zuckerrübe. Zeitschr. f. Zuckerind. Böhmen **43**, 138—39, 1918, Versuchsstation f. Zuckerind. Prag.

Rotfaule Rüben sollte man nicht auf Zucker verarbeiten, weil sonst das Mycel des Pilzes in den Schlamm der Absatzgruben gelangt, welcher als

Kompost verwendet wird. Rotfaule Zucker- oder Futterrüben sollten nicht in Mieten aufbewahrt und auch nicht verfüttert werden, weil durch den Dünger die Abfälle wieder auf das Feld gebracht werden.

Wehmer, C. Über Fumarsäuregärung des Zuckers. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **51,** 1663—68, 19 10. (5/8.) 1918.

Die Laboratoriumsrasse eines durch sehr starkes Säuerungsvermögen ausgezeichneten Pilzes (Aspergillus fumaricus) bildete neben etwas Citronensäure in der Hauptsache Fumarsäure. Der Pilz vermag relativ große Mengen Zucker glatt zu vergären; er liefert die Säure in freiem Zustande als Oxydationsprodukt des Zuckers; Kreide wird gelöst und in Gestalt organischer Ca-Salze wieder abgeschieden. So ließen sich z. B. 15g $CaCO_2$ unter Verbrauch von 20—30 g Rohrzucker in 30g Ca-Salze überführen, von denen ein großer Teil in wasserlöslichen Krusten kristallisiert; ihre Säure ist Fumarsäure. Wie bei ähnlichen Vorgängen (Milchsäure-, Oxalsäuregärung) ist Abstumpfung der vorhandenen Säure Bedingung für Fortgang der Reaktion. Der Zucker, 20proz. Lösungen, wird von dem Pilz restlos vergoren; neben dem neutralen erhält man schwankende Mengen leichtlöslichen sauren Ca-Salzes, etwas Citrat (bis 4% der Krusten) und anderes Ca-Salz. Ca 60 bis 70% des Zuckers werden in Fumarsäure umgewandelt. Das Wachstumsoptimum des Pilzes liegt bei 22°, das Maximum bei 30°, Säuerung findet aber noch statt oberhalb 30°. Auch andere Zuckerarten, wie Maltose und Dextrose, sind auf Fumarsäure vergärbar.

dalla Torre, G. Die Mikrobenflora der Molke von Granakäse. Staz. sperim. agrar. ital. **51,** 317—54, 1918, Lodi, Staz. Speriment. di Caseificio, Lab. di batteriologia.

Die Molke enthält die gleiche Flora wie der frisch hergestellte Käse. Es fanden sich unter den verschiedentlich vertretenen Milchsäurebakterien die verschiedenen Typen des Freudenreichschen Bact. casei. Da die morphologischen Eigenschaften dieser Bakterien ziemlich häufig zur Charakterisierung der Arten nicht ausreichen, wurde versucht, die Milchsäurestäbchen in zwei deutlich geschiedene Unterklassen nach ihren physiologischen Eigenschaften zu scheiden, und zwar nach der Koagulation und der Gasbildung. Als koagulierende werden diejenigen echten Milchsäurestäbchen bezeichnet, die imstande sind, Milch in längerer oder kürzerer Zeit, selten in mehr als 4 Tagen, zum Gerinnen zu bringen, und die kein Gas erzeugen, als gasogenkoagulierende diejenigen, die die Milch erst nach langer Zeit, mitunter auch gar nicht gerinnen lassen, aber dafür Gas erzeugen.

Die gasogenkoagulierenden Bakterien gehören zu den anaeroben Bakterien, Aerogenes und Coli wachsen besser in Gegenwart von O_2. In Molkenpepton bei 38° erzeugen die koagulierenden allgemein in nicht mehr als 2 Tagen eine starke Trübung und einen deutlichen, oft flockigen Nieder-

schlag, die gasogenkoagulierenden nur sehr leichte Trübung und äußerst geringen oder gar keinen Niederschlag.

Die koagulierenden Stäbchen erteilen zuweilen dem Nährboden einen unangenehmen, bitterlichsauren Geschmack und bilden, wenn im Käse in reichlicher Menge vorhanden, die direkte Ursache seiner Bitterkeit.

In der warmen Jahreszeit überwiegen die koagulierenden, in der kalten die gasogenkoagulierenden. — Auch die Menge des Bact. lactis acidi wechselt, scheint aber zu jeder Zeit recht hoch zu sein. Diese Art findet sich häufig durch Diplokokken, oder Streptokokken vielfach in ziemlich langen Ketten, vertreten, zuweilen auch durch solche mit Verzweigungen; allgemein lassen sich zwei Formen unterscheiden, runde und in die Länge gezogene, die sich stark der Stäbchenform nähert. — Saccharomyceten und Torulae sind, von Ausnahmen abgesehen, in der warmen Jahreszeit stärker vertreten. Von anderen Bakterien wurden häufiger Kokken und weiße und gelbe Stäbchen, teils verflüssigend, teils nicht verflüssigend für Gelatine, und sporenbildende Bakterien gefunden.

In Beziehung zum Gelingen der Käse erschienen diejenigen Molken fehlerhaft, die entweder eine zu große Zahl von Aerogenes- und Colibakterien enthielten oder eine beträchtliche Menge von gasogenkoagulierenden, besonders wenn sich darunter stark gasbildende Arten befanden. Im ersten Falle ergaben sich stark geblähte Käse mit schwammiger Rinde von süßlichem Geschmack, im zweiten fanden sich Risse verschiedener Größe, gewöhnlich mit kleiner, aber dichter Augenbildung.

Murray, Alan J. Bewertung der Düngemittel. Journ. Soc. Chem. Ind. **37**, T. 317—18, 16/12. (23/10.) 1918, Reading, University College.

Erörterung der Geldwertberechnung der Düngemittel auf Grund ihrer Zusammensetzung und der im Handel und Verkehr jeweils herrschenden Verhältnisse.

Wacker, Alexander. Die Bedeutung der Gärungsessigindustrie im deutschen Wirtschaftsleben. Dtsch. Essigind. **23**, 51, 21/2.

Die von H. Wüstenfeld aufgestellte Behauptung, die Essiggewinnung aus Kohle und Kalk mittels elektrischer, aus Kohle stammender Energie sei Kohlenverschwendung, trifft für das in Burghausen a. d. Salzach betriebene Wacker-Werk nicht zu, da dieses Kohle nur für Rektifikationszwecke des 95—97 proz. Rohproduktes und Koks für die Karbiderzeugung gebraucht. Im übrigen wird überschüssige, bisher unbenutzte Wasserkraft ausgenutzt. Die Redaktion der Deutschen Essigindustrie gibt in Nachschrift zu, daß die Verhältnisse beim Wacker-Werk andere wie bei den übrigen Fabriken seien, betont aber, daß elektrische Energie, auch wenn sie aus Wasserkraft gewonnen wird, nützlicher zur Gewinnung von Kalkstickstoff angewendet werden würde.

Verzeichnis der Personennamen

Zusammengestellt von Toni Unger

Alphabetisches Sachverzeichnis

Zusammengestellt von Toni Unger











